

**Univerzita Karlova v Praze**  
**2. lékařská fakulta**

Studijní program: Lékařská biofyzika



**MUDr. Pavel Kožner**

**ANALÝZA VRSTVY RETINÁLNÍCH NERVOVÝCH VLÁKEN U HIV  
POZITIVNÍCH PACIENTŮ V ÉŘE KOMBINOVANÉ  
ANTIRETROVIROVÉ TERAPIE**

ANALYSIS OF THE RETINAL NERVE FIBER LAYER IN HIV  
POSITIVE PATIENTS IN ERA OF COMBINATION  
ANTIRETROVIRAL TREATMENT

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: Doc. MUDr. Aleš Filouš, CSc.

Školitel konzultant: Doc. MUDr. Ladislav Machala, Ph.D.

Praha, 2012

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, dne 10.12.2012

MUDr. Pavel Kožner

Podpis

## **Poděkování:**

Rád bych na tomto místě poděkoval mým školitelům a konzultantům Doc. MUDr. Alešovi Filoušovi, CSc. z Oční kliniky dětí a dospělých UK 2. LF a FN Motol v Praze, Doc. MUDr. Ladislavu Machalovi, PhD z Infekční kliniky UK 3. LF a AIDS Centra Nemocnice Na Bulovce v Praze, a RNDr. Marku Malému, CSc. z Oddělení biostatistiky a informatiky, Státního zdravotního ústavu v Praze, a to především za odborné vedení, cenné rady, připomínky a pomoc při zpracování a interpretaci dat.

Mé poděkování patří i primáři očního oddělení Nemocnice na Bulovce, panu MUDr. Břetislavu Brožkovi, CSc. za jeho vstřícnost a podporu, a stejně tak kolegům z Očního oddělení, Nemocnice Na Bulovce za jejich laskavé konzultace a zapůjčení fotografií.

## **Identifikační záznam**

KOŽNER, Pavel. *Analýza RNFL u HIV pozitivních pacientů v éře kombinované antiretrovirové terapie. [RNFL analysis in HIV positive patients in era of combination antiretroviral treatment]*. Praha, 2012. 93 s. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karova v Praze, 2. lékařská fakulta, Lékařská biofyzika. Vedoucí práce Doc. MUDr. Aleš Filouš, CSc.

# OBSAH

ÚVOD.....	6
1.PROBLEMATIKA,DIAGNOSTIKA A LÉČBA HIV INFEKCE V SOUČASNOSTI .....	9
1.1 Problematika HIV infekce .....	9
1.1.1 Historie a epidemiologie infekce HIV.....	9
1.1.2 Epidemiologický stav infekce HIV v ČR.....	10
1.1.3 Charakteristika viru HIV a jeho replikace .....	12
1.1.4 Klinický obraz a klasifikace HIV infekce .....	14
1.2 Diagnostika a léčba HIV infekce v současnosti .....	18
1.2.1 Laboratorní metody v diagnostice HIV infekce .....	18
1.2.2 Současné možnosti léčby infekce HIV .....	19
1.2.3 Přehled antiretrovirových antivirotik užívaných k léčbě infekce HIV .....	20
1.2.4 Léky užívané k profylaxi oportunních infekcí.....	28
1.2.5 Nežádoucí účinky antiretrovirové terapie .....	29
1.2.6 Nežádoucí účinky terapie infekce HIV na oko .....	32
2. OČNÍ KOMPLIKACE U INFEKCE HIV .....	33
2.1 Přehled oportunních očních komplikací u infekce HIV .....	33
2.1.1 Infekční oční komplikace u HIV infekce.....	33
2.1.2 Neinfekční oční komplikace u HIV infekce .....	39
2.2 Vývoj oportunních očních komplikací u infekce HIV.....	47
3. ANALÝZA VRSTVY RETINÁLNÍCH NERVOVÝCH VLÁKEN U HIV POZITIVNÍCH PACIENTŮ V ÉŘE KOMBINOVANÉ ANTIRETROVIROVÉ TERAPIE .....	49
3.1 Stanovení cílů a hypotéz.....	49
3.2 Metodika a zpracování.....	50
3.2.1 Soubor pacientů.....	50
3.2.2 Struktura oftalmologického vyšetření .....	51
3.2.3 Vyšetření nervových vláken sítnice .....	51
3.2.4 Zkoumaná kritéria .....	54
3.2.5 Etické aspekty .....	56
3.2.6 Statistické metody .....	56
3.3 Výsledky .....	57
3.3.1 Epidemiologická charakteristika souboru .....	57
3.3.2 Přehled naměřených hodnot parametrů RNFL v souboru a jejich srovnání s hodnotami zdravé populace .....	58
3.3.3 Přehled výsledků vlivu délky trvání infekce HIV na tloušťku RNFL.....	60
3.3.4 Přehled výsledků vlivu imunitního profilu na tloušťku RNFL .....	64
3.3.5 Přehled výsledků vlivu antiretrovirové terapie na tloušťku RNFL.....	68
3.4 Diskuze .....	71
3.4.1 Hodnocení naměřených hodnot RNFL v našem souboru a jejich srovnání s hodnotami zdravé populace .....	71
3.4.2 Hodnocení vlivu délky trvání HIV infekce na RNFL .....	74
3.4.3 Hodnocení vlivu počtu lymfocytů na pokles RNFL .....	78
3.4.4 Hodnocení vlivu antiretrovirové terapie na pokles RNFL .....	79
ZÁVĚR.....	81
SOUHRN .....	82
SUMMARY .....	83
SEZNAM TABULEK .....	84
SEZNAM GRAFŮ.....	85
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	85
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	86
PŘÍLOHA – PŘEHLED PUBLIKACÍ S PODKLADEM K DISERTACI .....	92

# ÚVOD

Pandemie infekce způsobené virem lidského imunodeficitu (HIV, z angl. *Human Immunodeficiency Virus*) je považována za jeden z hlavních fenoménů medicíny přelomu posledního tisíciletí a rovněž za jednu z hlavních výzev biomedicínského výzkumu současnosti. Vzhledem k obrovskému počtu obětí a způsobu přenosu se problematika HIV postupně dotkla prakticky všech vědních oborů biomedicíny, preklinickými vědními obory počínaje, přes široké spektrum klinických oborů, až po následnou zdravotní a sociální péči. Fenomén infekce HIV se stal hybnou silou pro mohutnou odpověď základního výzkumu a farmaceutického průmyslu, a to především v důsledku nemalých investic do zvládnutí problematiky ze strany státního i soukromého sektoru bohatých zemí západního světa. Díky tomu vznikla i celá řada nových léčiv, z nichž velká část je určena k boji proti virovým infekcím, na které dříve neexistovala žádná léčiva. Dnešní období výzkumu antivirových tak nápadně připomíná boj s bakteriálními infekcemi a rozmach antibiotik po druhé světové válce.

Především díky prevenci a těmto novým antivirovým lékům se naštěstí podařilo šíření viru HIV, následné komplikace HIV pozitivních pacientů i přenos HIV infekce z matky na dítě, v západním světě v posledních dvou dekadách částečně zpomalit. Pro vysokou cenu má však k antivirovým bohužel stále špatný přístup obyvatelstvo zemí třetího světa, kde jsou přes všechny programy zdravotních organizací dostupné pouze asi pro jednu čtvrtinu nemocných obyvatel a pandemie se tak v těchto podmínkách šíří velmi rychle dál. Takové epidemiologické charakteristice samozřejmě odpovídá i odlišná skladba oportunních infekcí v rozvojových zemích, která se tak podobá spíše stavu konce osmdesátých let v našich zeměpisných končinách.

Zavedením kombinované antiretrovirové terapie se u HIV pozitivních pacientů v posledních desetiletích výrazně změnil průběh i skladba orgánových komplikací, včetně těch postihujících oko. [1-4] Oční komplikace se s rozdílnou skladbou dlouhodobě vyskytují až u dvou třetin HIV pozitivních pacientů. [5, 6] Zásadním momentem s nástupem antiretrovirové terapie byl relativní nárůst četnosti „banálních“ očních komplikací na úkor těch velmi závažných, které se nicméně i nadále vyskytují a mohou skončit až slepotou pacienta. [1, 3] Výskyt

závažných očních komplikací u HIV pozitivních pacientů je i dnes vázán především na stádium hlubokého imunodeficitu. V časných stádiích HIV infekce je takové oční postižení související s HIV infekcí velmi vzácné, avšak při rozvinutém onemocnění nalézáme takové komplikace relativně často. [6] Mezi nejzávažnější okulární oportunní komplikace se řadí infekce lidským Cytomegalickým virem (CMV), infekce virem Herpes Simplex (HSV), Varicella - Zoster (VZV), onemocnění syfilis a toxoplazmóza, z nádorů je to lymfom, a pro diferenciální diagnostiku důležité stavy HIV retinopatie a uveitida podmíněná zotavením imunity v rámci rekonstituce organismu (IRIS, z angl. *immune reconstitution inflammatory syndrom*), o které bude pojednáno v dalším textu. [7]

Tak jak se v rámci infekce HIV mění skladba oportunních onemocnění, získávají na důležitosti právě nové klinické jednotky, které byly dříve zastíněny závažnými oportunními infekcemi. V patofyziologii těchto stavů se předpokládá přímé postižení tkání virem, nepřímé postižení patologickou reakcí imunitního systému, nebo toxickými účinky antiretrovirové terapie. V prvním případě se jedná o idiopatická postižení tkání bez jakéhokoliv zjevného korelátu kromě přítomné infekce HIV nebo narušené buněčné imunity, hovoříme pak o HIV retinopatii, HIV encefalopatii, HIV demenci, HIV neuropatii, HIV myopatii a podobně. [8] V druhém případě se jedná o prudkou imunitní reakci, na preexistující latentní infekční agens, která se manifestuje až po zlepšení imunity po nasazení antiretrovirové léčby, tedy v rámci zmíněného imunitního rekonstitučního zánětlivého syndromu (IRIS). [9] A konečně, ve třetím případě se jedná o postižení tkání v důsledku vedlejších účinků antiretrovirové terapie, a v takovém případě hovoříme o toxické encefalopatii, toxické neuropatii, toxické hepatopatii, toxické myopatii a podobně. [8, 10]

V posledních letech se rovněž objevila některá rozporuplná sdělení, která naznačují i možný úbytek retinálních nervových vláken (RNFL, z angl. *Retinal Nerve Fiber Layer*) u HIV pozitivních pacientů bez jakýchkoli jiných zjevných příčin. Takové změny by mohly být podkladem nové hypotetické jednotky HIV neuropatie optického nervu, případně toxické neuropatie optického nervu při léčbě antiretrovirovými přípravky. Rozhodli jsme proto tomuto problému věnovat hlouběji a ověřit stav RNFL u HIV pozitivních pacientů, stejně jako vliv některých faktorů, které by mohly ovlivňovat tloušťku RNFL v observační studii.

Výsledky této studie byly publikovány v našem článku v časopisu Neuro-ophthalmology v roce 2011. [11]

Pro lepší orientaci ve zkoumané problematice a před definováním konkrétních cílů práce je však vhodné nejprve uvést základní charakteristiky infekce HIV včetně problematiky HIV týkající se onemocnění oka.



# 1. PROBLEMATIKA, DIAGNOSTIKA A LÉČBA HIV INFEKCE V SOUČASNOSTI

## 1.1 Problematika HIV infekce

### 1.1.1 Historie a epidemiologie infekce HIV

Historie syndromu získané imunitní nedostatečnosti (AIDS, z angl. *Acquired Immune Deficiency Syndrome*) sahá do roku 1981. V tomto roce bylo poprvé užito názvu AIDS pro pracovní označení neznámé příčiny způsobující u mladých lidí, do té doby velmi neobvyklá onemocnění, která dnes nazýváme oportunními komplikacemi. [12, 13] Jelikož množství těchto pacientů rychle narůstalo, objev příčiny na sebe nenechal dlouho čekat a byl identifikován virus HIV. [14, 15] Od té doby se z HIV infekce a jejích komplikací stal závažný celosvětový problém charakteru pandemie.

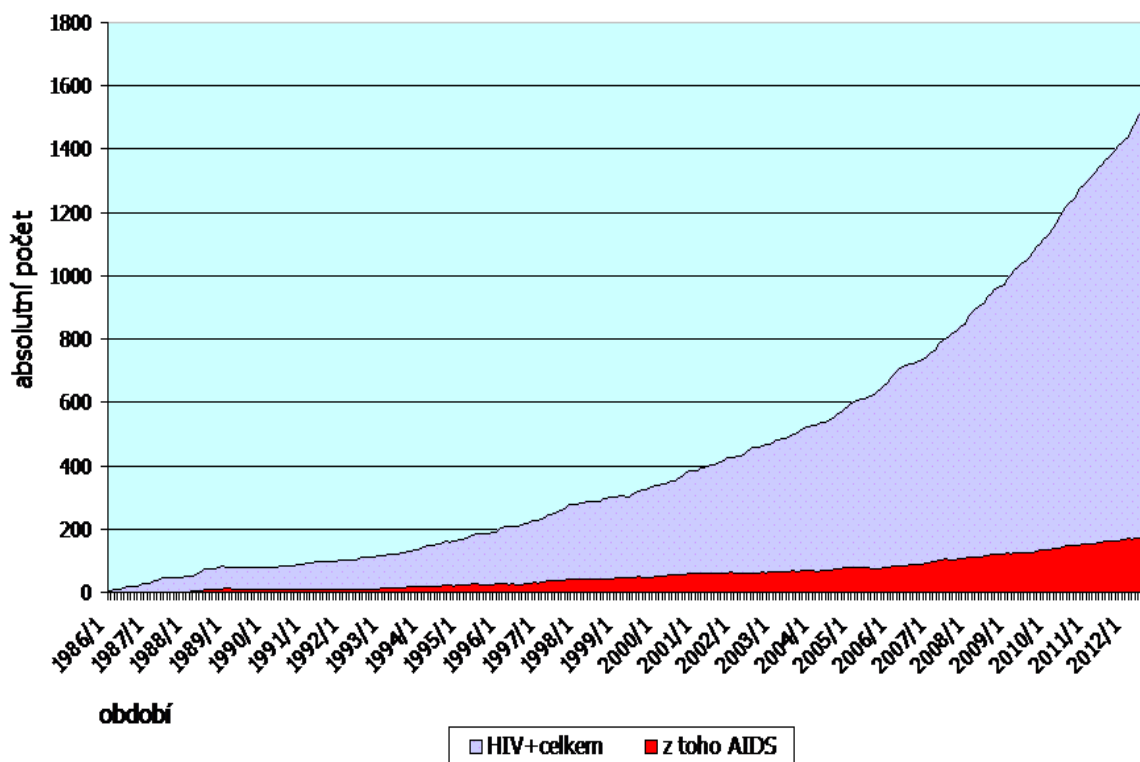
I přes vynaložení obrovských finančních prostředků, celosvětovou kampaň prevence a pokroky v léčbě, počet nakažených neustále roste, a kumulativní počet nemocných atakuje hranici 50 milionů. Nárůst počtu nakažených se odhaduje přibližně na 2,5 – 3 milionů nových pacientů ročně a podobný počet pacientů v důsledku HIV infekce a jejích komplikací ročně také umírá. [16] Ačkoli se může zdát v důsledku biomedicínského pokroku, že je infekce HIV v současnosti problémem především zemí třetího světa, nárůst se týká i západních zemí, včetně České Republiky. Ani výhled situace není příliš optimistický, odhaduje se totiž, že kolem roku 2030 celosvětově zemře na následky HIV až 6 milionů lidí ročně. [5] Z epidemiologického hlediska je rovněž nepříznivá změna skladby HIV pozitivních pacientů. Na rozdíl od začátku pandemie, kdy mezi HIV pozitivními osobami výrazně převažovaly specifické skupiny obyvatelstva jako muži s homosexuální orientací a hemofilici, v posledních letech se poměr pohlaví nemocných stále vyrovnává, a například v rozvojových zemích nyní ženy představují téměř polovinu všech nakažených pacientů. Tento epidemiologický fakt, spolu s promiskuitou a nedůslednou

prevencí v tradičních společenstvích v těchto zemích, má za následek rychlejší šíření HIV s následně i vyšším podílem nemocných dětí a uzavírá se tak bludný kruh se stoupajícím trendem v prevalenci tohoto onemocnění.

### 1.1.2 Epidemiologický stav infekce HIV v ČR

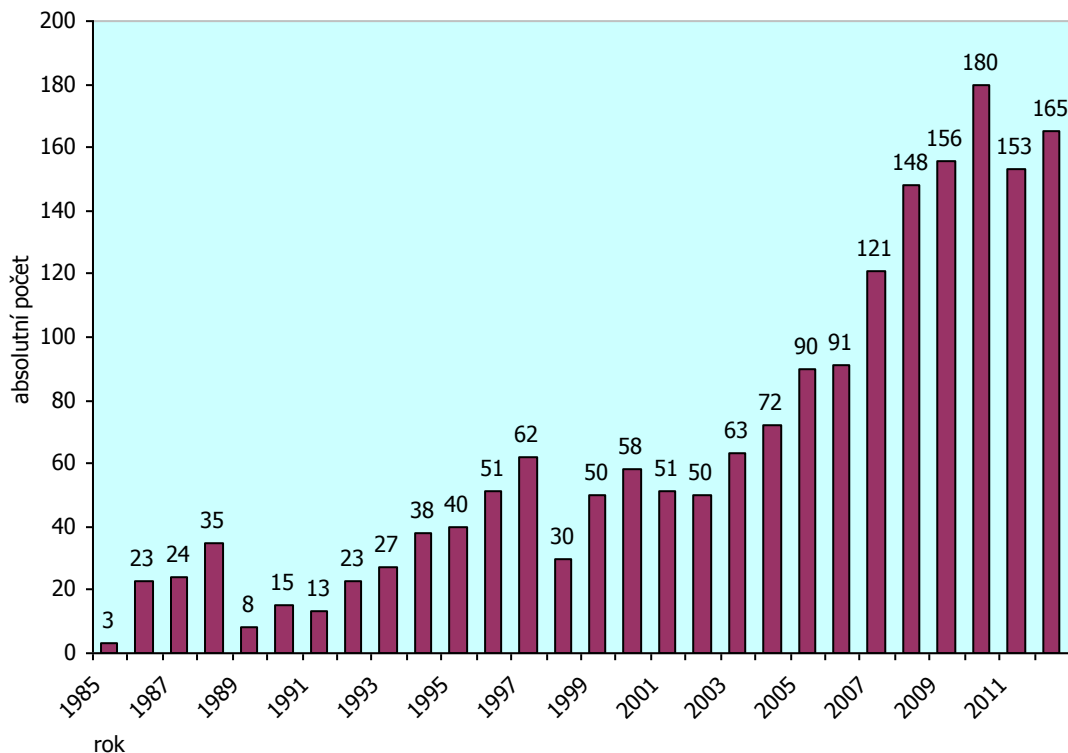
Historicky byla první diagnóza infekce HIV na našem území stanovena v roce 1985. Od té doby bylo celkově k 30. 9. 2012 v ČR zachyceno 1840 HIV pozitivních pacientů. [17] Trend ve výskytu infekce HIV i AIDS je výrazně rostoucí, jak je patrné z následujícího kumulativního grafu. I přes veškerou snahu a preventivní kampaně se nedaří vzestupnou incidenci nákazy HIV zastavit. Data Státního zdravotního ústavu k 30. 9. 2012 se 165 novými pacienty dokonce naznačují, že rok 2012 bude z hlediska nových případů rekordní.

Graf č. 1: Osoby žijící s HIV/AIDS v České republice (pouze občané ČR a cizinci s trvalým pobytem) kumulativní měsíční údaje k 30.9.2012



Zdroj: RNDr. Marek Malý, CSc., Státní zdravotní ústav.

Graf č. 2: **Nové případy infekce HIV v České republice (pouze občané ČR a cizinci s trvalým pobytem) podle roků k 30.9.2012**

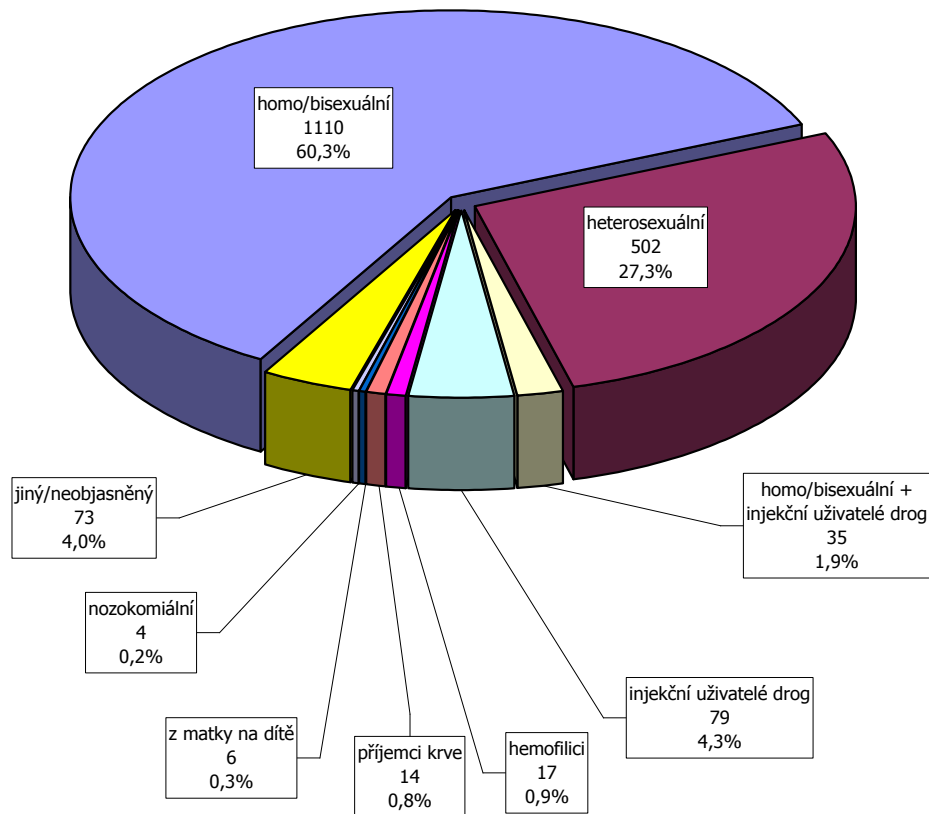


Zdroj: RNDr. Marek Malý, CSc., Státní zdravotní ústav.

Co se týče způsobu přenosu infekce HIV, jak ukazuje následující kumulativní graf, tak na celkovém počtu se podílí 60,3% homosexuální/bisexuální pohlavní přenos (1110 pacientů), 27,3% heterosexuální pohlavní přenos (502 pacientů), 4,3% injekční uživatelé drog (79 pacientů), 1,9% homosexuální/bisexuální pohlavní přenos a injekční uživatelé drog (35 pacientů), 0,9% hemofilici (17 pacientů), příjemci krve 0,8% (14 pacientů), 0,3% vertikální přenos z matky na dítě (6 pacientů), 0,2% nozokomiální nákazy (4 pacienti) a ve 4% se způsob přenosu nepodařilo zjistit (73 pacientů).

Ve srovnání s jinými státy je situace na našem území poměrně dobrá, nicméně nárůst počtu případů a trend vývoje je alarmující a vypovídá o podceňování problematiky HIV v naší populaci.

Graf č. 3: Případy infekce HIV v České republice podle způsobu přenosu (pouze občané ČR a cizinci s trvalým pobytem) k 30.9.2012



Zdroj: RNDr. Marek Malý, CSc., Státní zdravotní ústav.

### 1.1.3 Charakteristika viru HIV a jeho replikace

Virus HIV se taxonomicky řadí mezi RNA viry čeledi *Retroviridae* a podčeledi *Lentivirinae*. V současné době jsou známy dva podtypy viru lidského imunodeficitu způsobující onemocnění AIDS, mají označení HIV-1 a HIV-2. Virus HIV-1 je hlavní varianta zodpovědná za soudobou pandemii AIDS, kdežto virus HIV-2 má menší důležitost pro svou nižší virulenci, mírnější klinický průběh onemocnění a omezený rezervoár především na oblasti západní Afriky. Viry HIV jsou výhradně lidským patogenem, patří do společné skupiny patogenních retrovirů společně s viry HTLV (zkratka z angl. *Human T-cell Lymphotropic Virus*), které způsobují některé typy hematopoetických malignit u lidí, je však také příbuzný s celou řadou jiných savčích retrovirů, jako jsou například virus Visna-Maedi způsobující encefalomyelitidu a chronickou

pneumonii ovcí, virus koňské infekční anemie, virus kočičího imunodeficitu a především pak opičí viry SIV (z angl. *Simian Immunodeficiency Virus*), které se viru HIV podobají nejvíce, a to jak patogenezí, tak i klinickým průběhem onemocnění. V současné době je všeobecně uznávána teorie, že viry HIV se vyvinuly přirozenou evolucí právě z opičích virů SIV jejich přenosem na člověka. [18, 19].

Skupina retrovirů, kam řadíme i HIV, patří mezi nejmenší biologické jednotky schopné samostatné replikace. Jejich charakteristickou vlastností je uchovávání genetické informace v podobě ribonukleové kyseliny (RNA, z angl. *Ribonucleic acid*) namísto deoxyribonukleové kyseliny (DNA, z angl. *Deoxyribonucleic acid*), a přítomnost enzymu reverzní transkriptázy, nazývané též reverzní DNA polymeráza. Tento enzym je schopen zajistit přepis virové RNA do provirové DNA, která se následně inkorporuje do DNA hostitelské buňky a virová informace je poté přepisována napadenou buňkou za tvorby virových partikulí.

Virová částice HIV má sférický tvar o průměru přibližně 100 nm. Povrchový obal viru tvoří vnější fosfolipidová dvojvrstva, ve které jsou zakotveny povrchové glykoproteinové komplexy tvořené transmembránovou částí (gp41) a vnější kontaktní podjednotkou (gp120). Tyto povrchové glykoproteiny hrají zásadní roli při adhezi viru na struktury cílové buňky a jeho následnou fúzi s hostitelskou buňkou. Pod fosfolipidovou dvojvrstvou se nalézají ještě vnitřní proteinová vrstva označovaná jako retrovirová matrix (p17). Uvnitř matrix se pak nachází vlastní válcovitý proteinový obal, tzv. kapsida (p24), uchovávající dvě identické molekuly virové RNA vázané na bazofilní proteiny (p7 a p9) a rovněž enzymy, nezbytné pro replikační cyklus viru - reverzní transkriptáza (p66/p51), integráza (p32) a proteáza (p11). [20, 21]

Důležitou vlastností HIV je selektivní tropismus k epitopu antigenní molekuly CD4 (z angl. *cluster of differentiation 4*), což je fylogeneticky konzervativní struktura nalézající se v cytoplazmatické membráně subpopulace T lymfocytů, zvaných helpery (CD4+ T lymfocyty); avšak v menší míře ji můžeme také nalézt na jiných buňkách, na monocytech/makrofágách a mikroglii/dendritických buňkách. Skladba všech pro virus cílových buněk je tedy jasně definována přítomností tohoto antigenního epitopu a buňky, které tento epitop nemají, nebo jej mají modifikovaný, k infekci vnímavé nejsou.

Replikační cyklus viru začíná tak, že při styku povrchového komplexu gp120 viru HIV s buněčným receptorem CD4 a koreceptory RANTES, dojde k fúzi a inkorporaci viru dovnitř buňky. V cílové buňce se tak objeví virová RNA a reverzní transkriptáza, nutná k přepisu RNA do virové DNA, a následně se pomocí enzymu integrázy tato virová DNA včlení do genomu hostitelské buňky. Pokud je napadená buňka aktivována, dochází kromě syntézy buněčných struktur i k replikaci virového materiálu buňkou a tedy tvorbě virových partikulí, v jejichž maturaci hraje ke konci replikačního cyklu významnou roli ještě enzym HIV proteáza. Teprve kompletní virové partikule, které projdou celým cyklem replikace i maturace jsou infekční. Po dokončení celého procesu replikace dochází k rozpadu buňky a infekce řetězově postupuje dál. [20] Jelikož se odhaduje, že reverzní transkripce způsobuje velké množství chyb a tedy i mutací, které mohou způsobit na jedné straně nižší infekčnost a virulenci, ale na druhé straně i určitou rezistenci k léčivům, je znalost jednotlivých kroků replikace a maturace viru HIV zásadní pro možnosti terapeutických intervencí. [22] V dnešní době je proto velice moderní léčba takzvanou kombinovanou antiretrovirovou terapií, která dokáže přerušit replikační cyklus viru na více místech a tedy i s vyšší pravděpodobností pacienta léčit.

#### **1.1.4 Klinický obraz a klasifikace HIV infekce**

Zdrojem nákazy HIV bývá krev, sekrety pohlavního ústrojí a mateřské mléko. K přenosu dochází nejčastěji průnikem infikovaného sekretu traumatizovanou sliznicí při pohlavním styku; méně často vertikálním přenosem z matky na plod, při krevních transfuzích, při intravenózních aplikacích drog, anebo při transplantacích. Inkubační doba onemocnění do propuknutí akutní fáze infekce trvá zhruba 2-6 týdnů a poté nastupuje mnohaleté bezpříznakové období trvající někdy až 10 let.

Po vniknutí do organismu virus proniká do lymfatické tkáně a periferní krve, kde napadá cílové imunitní buňky s antigenním epitopem CD4. [23] Ukryt v těchto infikovaných buňkách dokáže virus HIV také dobře pronikat do fyziologickými bariérami dobře chráněných orgánových systémů, jako jsou například CNS nebo oko, a může se tak po dlouhou dobu ukrývat před

imunitním systémem. [24] Latentní infekce může takto probíhat roky, za postupného diskrétního prohlubování poruchy imunity, především úbytku CD4+ T lymfocytů, a začíná se rozvíjet onemocnění AIDS s typickými oportunními infekcemi a specifickými druhy nádorů, které mají těžký průběh a bývají pro jedince nakonec často fatální.

Mimo tyto závažné oportunní komplikace, nalézáme u pacientů v pokročilejších stadiích i chronické změny tkání resultující v poruchu jejich funkce. Předpokládá se, že tyto změny by mohly být způsobeny imunopatologickými mechanismy, a to především v důsledku invaze aktivovaných lymfocytů a makrofágů do zdravé tkáně, které zde následně vytvářejí chronickou zánětlivou reakci podobnou například cytokininové bouři při odhojovací reakci po alogenní transplantaci tkání. [25] Tato aktivace imunitních buněk se hypotetizuje buďto na principu přímé aktivace napadené buňky virem HIV, anebo na principu nepřímé aktivace po její atrakci do zdravé tkáně v důsledku přítomnosti viru, nebo produktů virové replikace vzniklých po rozpadu hostitelské buňky. [26] Cytokininovou bouří se označuje stav organismu vzniklý na základě nepřiměřeně velké reakce imunity na alogenní antigen / agresivní patogen, jehož principem je porušení vzájemných negativních zpětných vazeb mezi lymfocyty a makrofágy v komplexu dějů imunitní reakce. [27] Tento stav se může klinicky projevovat horečkou, poruchami krevního oběhu, selháváním orgánů až šokem, ale ve své mírné chronické formě pouze únavou, nechutenstvím, anorexií a celkovým strádáním organismu, což jsou stavy u HIV pozitivních pacientů v pokročilých stadiích onemocnění velice běžné.

V poslední řadě je také potřeba zmínit i změny způsobené toxicitou antivirové terapie na některé orgánové systémy. Tyto změny ve většině případů korelují s délkou léčby a vzhledem narůstající délce přežití, mohou mít zásadní vliv na populaci HIV pozitivních pacientů jak nyní, tak především v budoucnu.

Klinický průběh HIV infekce je rozdělen na tři stadia - A, B a C; název AIDS se vžil především pro nejtěžší stadium C. Zařazení pacienta do příslušné kategorie je nepřímo ovlivněno imunitním stavem, ale je především určováno výskytem jednotlivých oportunních onemocnění, viz tabulka č. 1. Nejvýznamnějším markerem pokročilosti onemocnění HIV je stav imunitního systému, který je nepřímo úměrný počtu CD4+ T lymfocytů, jejichž hodnoty se pohybují u zdravých jedinců mezi 600 – 1400 buněk /  $\mu$ l, a činí asi 45 % podílu

z celkového počtu všech lymfocytů v organismu.

Přibližně ve 2/3 je onemocnění zahájeno tzv. akutní HIV infekcí. Akutní HIV infekce se projevuje nespecifickými celkovými příznaky jako jsou horečka, faryngitida, lymfadenopatie, které však spontánně odeznívají a většinou nevedou ke stanovení diagnózy. Takto začíná asymptomatické stadium odpovídající klinickému stadium A, kdy pacient prakticky nemusí mít žádné příznaky onemocnění. Konec asymptomatického stadia a nástup dalšího obvykle signalizuje perzistující generalizovaná lymfadenopatie, což je déle než 3 měsíce trvající anomální zvětšení lymfatických uzlin, obvykle spojené s hodnotami CD4+ T lymfocytů pod 500 buněk /  $\mu$ l v krevním obraze. Klinické stadium B je charakterizováno výskytem lehčích oportunních komplikací, poruchami krevního obrazu a hodnotami CD4+ T lymfocytů v rozmezí 300 – 500 buněk /  $\mu$ l. Je to stadium, kdy je HIV infekce nejčastěji diagnostikována a kdy lze stále počítat s dobrou odpovědí na antivirovou terapii. Pokud se antivirová terapie v tomto stadiu nezahájí, prohlubuje se imunodeficit a propuká stadium C, neboli AIDS, s těžkými oportunními komplikacemi. Kritickým bodem pro rozvoj tohoto stadia je pokles počtu CD4+ T lymfocytů pod 200 buněk /  $\mu$ l. V tomto stadiu těžkých oportunních komplikací bývá menší naděje na celkovou restituci imunitního systému a v horším případě dochází až k multiorgánovému rozvratu organismu a smrti. Pacienti umírají buďto na infekční komplikaci, některý typ nádoru, anebo na celkové vyčerpání organismu. Nejčastějšími infekčními komplikacemi v tomto stadiu jsou toxoplazmóza, kryptokokóza, kryptosporidióza, kandidóza, tuberkulóza, herpetické, pneumocystové a cytomegalovirové infekce. Z neinfekčních komplikací jsou to nádorové procesy, především non - Hodgkinské lymfomy a Kaposiho sarkom, dále potenciálně imunopatologické stavy jako je HIV encefalopatie, HIV demence, HIV neuropatie, wasting syndrome, a konečně i stavy související s vedlejšími účinky léčby jako například toxická polyneuropatie, myopatie anebo hepatopatie, viz tabulka č. 1.



Tabulka č. 1: **Typické projevy HIV infekce v jednotlivých stádiích**

STADIA	TYPICKÉ PROJEVY
<b>Asympomatické Stadium A</b>	Akutní HIV infekce Asymptonická HIV infekce Perzistující generalizovaná lymfadenopatie
<b>Symptomatické Stadium B</b>	Orofaryngeální kandidóza Recidivující kandidová vulgovaginitida Orální leukoplakie Lymfoidní interstiální pneumonie Recidivující herpes zoster Protrahovaná horečka nebo průjem Trombocytopenická purpura Cervikální dysplazie nebo CA in situ Recidivující adnexitidy Listeriová meningitida Periferní polyneuropatie
<b>AIDS Stádium C</b>	Mozková toxoplazmóza Pneumocystová pneumonie Ezofageální kandidóza Generalizovaná CMV infekce nebo retinitida Generalizovaná HSV nebo VZV infekce Recidivující bakteriální pneumonie Orgánová TBC či mykobakteriόza Kryptokoková meningitida Histoplazmóza, kryptokόza, insosporidiόza Invazivní cervikální karcinom, Kaposiho sarkom Maligní lymfom či primární CNS lymfom Progresivní multifokální leukoencefalopatie HIV encefalopatie a HIV demence Wasting syndrom a toxická postižení terapií

Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: *Medical Management of HIV Infection* [5]

## 1.2 Diagnostika a léčba HIV infekce v současnosti

### 1.2.1 Laboratorní metody v diagnostice HIV infekce

Na základě vyhlášky Ministerstva zdravotnictví, probíhá v České republice odběr materiálu na testování infekce HIV výhradně na principu informovaného souhlasu vyšetřované osoby a zároveň jsou všechna potvrzující vyšetření prováděna centrálně v Národní referenční laboratoři pro AIDS, ve Státním zdravotním ústavu v Praze.

Pro stanovení infekce existuje kromě klinických známek i celá škála přímých a nepřímých laboratorních metod. Základní metodou pro screening HIV infekce je průkaz specifických sérových protilátek skupiny IgM nebo IgG, a to především imunohistochemicky pomocí metody ELISA (z angl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*). Tento nepřímý průkaz viru pomocí protilátek je sice technicky jednodušší a levnější, je ale nutno počítat s tím, že senzitivita takového testu je v prvních týdnech po nakažení výrazně nižší. Ke zpřesnění výsledků se proto tato nepřímá metoda někdy doplňuje i o přímou detekci antigenů pomocí ELISA, obvykle virového antigenu p24, a pak hovoříme o takzvané duální metodě detekce. [28]

V případě zachycené HIV positivity testem ELISA se vždy provádí verifikace přesnějším průkazem virových antigenů pomocí metody Western blotting. Tato metoda je založena na přímé detekci kapsidových proteinů p24 po separaci séra na gelové elektroforéze, přetištění na membránu, a následném označení hledaných cílových proteinů specifickou monoklonální protilátkou s navázaným činidlem způsobujícím oxidaci nebo redukci membrány po obarvení.

Další možností průkazu viru je přímý průkaz virové RNA pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR, z angl. *polymerase chain reaction*), který se však u nás pro vysokou cenu užívá zatím pouze pro kvantitativní sledování virové nálože, respektive intenzitu replikace viru v organismu již nakažených pacientů.

## 1.2.2 Současné možnosti léčby infekce HIV

Léčba HIV infekce je i v současnosti vzhledem k limitům vědy i omezeným finančním prostředkům velkým problémem. Současná antivirotika nejsou schopna infekci zcela vyléčit a pomáhají pouze udržovat imunitní systém v určité, často ale uspokojivé, kondici. Problém, který brání v úplné eradikaci HIV infekce v blízké budoucnosti, je především v principu replikačního cyklu viru. Virový genom je totiž po velmi dlouhou dobu uchováván latentně v klidových CD4+ T lymfocytech, jejichž poločas přežívání je přibližně 3,5 roku, a úplné vyléčení organismu by tak při ideálně účinné léčbě trvalo více jak 60 let. [29]

Základním cílem léčby HIV pozitivních pacientů je snaha o prodloužení a zlepšení kvality jejich života. Konkrétní léčba sestává především v užívání antivirotik účinných proti viru HIV a zároveň také v užívání podpůrných léků, které pomáhají řešit oportunní komplikace. Antiretrovirotika, jak se konkrétněji skupina antivirotik určených k léčbě HIV nazývá, jsou v dnešní době schopna zasáhnout do čtyř fází procesu virové replikace - do fúze HIV s cílovou buňkou – tzv. inhibitory fúze (FI) a antagonisté koreceptorů RANTES, do procesu reverzní transkripce RNA na provirovou DNA – tzv. nukleosidové a nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTI a NNRTI), do procesu integrace virové DNA do DNA hostitelské buňky – tzv. inhibitory integrázy (II) a do závěrečného stádia maturace – tzv. inhibitory proteázy (PI).

Indikací k zahájení antiretrovirové léčby je nejčastěji chronická HIV infekce u symptomatických pacientů s vysokým rizikem progresu do stadia AIDS či smrti, dále postexpoziční profylaxe, profylaxe vertikálního přenosu infekce z matky na plod a také závažně probíhající akutní HIV infekce. Časná postexpoziční profylaxe znamená zahájení antiretrovirové terapie co nejdříve, nejpozději do 48 hodin, po nechráněném pohlavním styku s nakaženým člověkem nebo po otevřeném poranění, způsobeném předmětem s kontaminovaným materiálem. V případě záchytu akutní HIV infekce je léčba sice rovněž plně indikována, jelikož dovede zbrzdřit počáteční rozvoj prudké suprese imunitního systému a zachovat tak větší podíl zdravé populace CD4+ T lymfocytů k obraně organismu do budoucna, na druhou stranu však bývá většinou nerozpoznána a její příznaky jsou přisuzovány banálním nachlazením.

Co se týče vertikálního přenosu z matky na plod, bez profylaxe činí toto riziko zhruba 20%. Při cíleném zahájení profylaxe přenosu infekce monoterapií antiretrovirotik, nejčastěji začátkem druhého trimestru, klesne toto riziko pro plod přibližně na 2%. [30] Profylaxe se navíc doplňuje léčbou novorozence antivirotiky po dobu šesti týdnů od porodu a přísným zákazem kojení, pro možný přenos i tímto způsobem.

Léčba symptomatických stadií chronické HIV infekce je nejčastější indikací k léčbě HIV vůbec a vždy se užívá přísně v kombinacích. Vzhledem k tomu, že replikace viru je zatížena velkým množstvím chyb, dochází časem u většiny pacientů následkem mutací genomu HIV k rozvoji rezistence na antivirotika, která je právě proto nutné podávat v kombinacích a časem i obměňovat. [31] Pro zvýšení léčebného efektu se tak v současné době podává obvykle kombinace tří preparátů ze dvou různých skupin v rámci takzvané kombinované antiretrovirové terapie, označované dříve zkratkou HAART (z angl. *highly active antiretroviral therapy*), dnes častěji cART (z angl. *combination antiretroviral therapy*). Monoterapie je vyhrazena prakticky pouze pro profylaxi vertikálního přenosu z matky na plod v průběhu těhotenství a porodu. [30] Ukazatelem účinnosti terapie je počet CD4+ T lymfocytů a virová nálož, což je počet molekul RNA viru v objemové jednotce krve, který koreluje s aktivitou infekce.

A konečně, nedělitelnou součástí péče o HIV pozitivní pacienty je léčba a profylaxe oportunních infekcí. Jedná se především o použití antibiotik a chemoterapeutik určených k léčbě nebo zabránění rozvoje bakteriálních, virových, parazitárních či plísňových onemocnění, které napadají specificky HIV pozitivní pacienty z důvodu rozvratu jejich buněčné imunity.

### **1.2.3 Přehled antiretrovirových antivirotik užívaných k léčbě infekce HIV**

Nejstarší skupinou antivirotik jsou nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy, jejichž užívání v praxi započalo již koncem osmdesátých let. [32] Od poloviny devadesátých let přibýly další dvě skupiny léků, nenukleosidové

inhibitory reverzní transkriptázy a inhibitory HIV proteázy. Dále se přibližně deset let v praxi užívají léky ze skupiny inhibitorů fúze, jejichž podskupinou jsou i nedávno zavedená moderní léčiva ze skupiny antagonistů koreceptorů RANTES. A zatím nejmodernější skupinou léků užívaných k léčbě infekce HIV jsou inhibitory virové integrázy. [28]

Nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy, viz tabulka č. 2, zasahují do samého počátku replikačního cyklu viru. Jedná se o syntetická analoga adenosinu, thymidinu, cytosinu a guanosinu, které při začlenění do DNA blokují proces reverzní transkripce virové RNA do provirové DNA. Nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy jsou vysoce účinnou skupinou antivirotik, která dobře pronikají hematoencefalickou bariérou a která jsou také dodnes základním stavebním kamenem cART. Vedlejší účinky nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy jsou dány především nežádoucím ovlivňováním aktivity mitochondriální DNA polymerázy v somatických buňkách pacienta a projevují se například laktátovou acidózou, jaterní steatózou, toxickou neuropatií, myopatií nebo pankreatitidou. [33]

Tabulka č. 2: Přehled nukleosidových inhibitorů HIV reverzní transkriptázy

<b>PŘÍPRAVEK</b>	<b>SKUPINA</b>	<b>PRŮNIK DO CNS (% plasm. konc.)</b>	<b>DÁVKOVÁNÍ</b>	<b>NEJČASTĚJŠÍ NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY</b>
<b>Zidovudin (ZDV)*</b>	NRTI	++ (60 %)	2x denně 250 mg p.o. 3x denně 200 mg p.o. (k dispozici i parenterální forma)	suprese krvetvorby myopatie bolest hlavy nausea
<b>Zalcitabin (ddC)</b>	NRTI	+ (20 %)	3x denně 0,75 mg p.o.	periferní neuropatie ulcerace v dutině ústní pankreatitida

<b>PŘÍPRAVEK</b>	<b>SKUPINA</b>	<b>PRŮNIK DO CNS (% plasm. konc.)</b>	<b>DÁVKOVÁNÍ</b>	<b>NEJČASTĚJŠÍ NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY</b>
<b>Didanosin (ddl)</b>	NRTI	+ (20 %)	1x denně 400 mg p.o.	Pankreatitida periferní neuropatie nausea laktátová acidosa
<b>Lamivudin (3TC)*</b>	NRTI	+ (10 %)	2x denně 150 mg	jen vzácně
<b>Stavudin (d4T)</b>	NRTI	+ (30 – 40 %)	2x denně 40 mg p.o.	periferní neuropatie lipoatrofie pankreatitida laktátová acidosa
<b>Abacavir (ABC)*</b>	NRTI	+ (30 %)	2x denně 300 mg	hypersenzitivní reakce
<b>Emtricitabin (FTC)</b>	NRTI	?	1x denně 200 mg p.o.	jen vzácně
<b>Tenofovir (TDF)</b>	NtRTI	?	1x denně 300 mg p.o.	jen vzácně mírná nefrotoxicita

Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: *Medical Management of HIV Infection* [5]

\* je i součástí kombinovaného přípravku Combivir® ( zidovudin + lamivudin) nebo Trizivir® (zidovudin + lamivudin + abacavir)

Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy, viz tabulka č. 3, jsou skupinou antiretrovirových léků s odlišným mechanismem účinku. Jedná se o látky, které fungují jako alosterické inhibitory reverzní transkriptázy, které po navázání blokují aktivní místo enzymu, a proces reverzní transkripce tak nemůže začít anebo pokračovat dál. Nenukleosidové inhibitory reverzní

transkriptázy mají odlišnou toxicitu než léky ze skupiny nukleosidových inhibitorů a v rámci jejich vedlejších účinků se vyskytují pouze ojedinělé toxoalergické reakce, výjimečně neuropsychiatrické účinky nebo hepatotoxicita. [34] Nevýhodou této skupiny léků je, vzhledem k vzájemné konformační odlišnosti jednotlivých polymeráz, neúčinnost na virus HIV – 2, a především snadný vznik zkřížené resistance napříč celou skupinou vzhledem k podobnému mechanismu účinku jednotlivých léků ze skupiny.

Tabulka č. 3: **Přehled nenukleosidových inhibitorů HIV reverzní transkriptázy**

<b>PŘÍPRAVEK</b>	<b>PRŮNIK DO CNS (% plasm. konc.)</b>	<b>DÁVKOVÁNÍ</b>	<b>NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY</b>
<b>Nevirapin(NVP)</b>	+ (< 45 %)	2x denně 200 mg p.o.	toxoalergický exantém hepatotoxicita
<b>Efavirenz (EFV)</b>	± (0,25 – 1,2 %)	1x denně 600 mg p.o.	toxoalergický exantém neuropsychiatrické poruchy
<b>Delavirdin (DLV)</b>	± (2 %)	3x denně 400 mg p.o.	toxoalergický exantém hepatotoxicita
<b>Etravirin</b>	neudáno	2 x denně 10 mg p.o.	toxoalergický exantém periferní neuropatie
<b>Rilpivirin</b>	neudáno	1x denně 25 mg p.o.	neuropsychiatrické poruchy, zvl. deprese bolest hlavy toxoalergický exantém

*Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: Medical Management of HIV Infection [5]*

Inhibitory proteázy jsou další skupinou antivirotik s vysokou účinností na HIV, viz tabulka č. 4. Na rozdíl od předchozích, účinkují na samém konci replikačního cyklu viru HIV před dokončením tvorby virionů, tj. při jeho maturaci. Maturace je proces, při kterém HIV proteáza štěpí řetězce virových polypeptidů do částic nutných ke kompletizaci virových partikulí. Inhibitory HIV proteázy působí jako alosterické inhibitory tohoto enzymu, které zablokují jeho aktivní místo potřebné k účinné interakci enzymu s peptidovými řetězci. Nekompletní virové částice nemají schopnost další replikace. Účinnost a některé vedlejší

účinky inhibitorů proteáz jsou determinovány faktem, že jsou odbourávány komplexem jaterních enzymů cytochromu P450. Na jedné straně tak při vzájemných interakcích mezi látkami odbourávaných tímto komplexem může dojít ke snížené efektivitě těchto léků a na straně druhé může dojít po zablokování tohoto enzymu i k těžkým intoxikacím. Mezi běžné a nejčastěji interagující látky s cytochromem P450 jsou považována antihistaminika, benzodiazepiny, neuroleptika, antituberkulotika, prokinetika, statiny, ale i alkohol. [28]

Tabulka č. 4: Přehled inhibitorů HIV proteázy

<b>PŘÍPRAVEK</b>	<b>DÁVKOVÁNÍ</b>	<b>NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY</b>
<b>Ritonavir (RTV)*</b>	2x 100 - 200 mg p.o. jako farmakokinetický booster (původní dávkování bylo 2x denně 600 mg p.o.)	Průjem lipodystrofický syndrom inhibice jaterního cytochromu P450
<b>Saquinavir (SQV)</b>	2x denně 1000 mg p.o. + RTV 2x denně 100 mg p.o.	Průjem lipodystrofický syndrom inhibice jaterního cytochromu P450
<b>Indinavir (IDV)</b>	3x denně 800 mg p.o. nebo 2x denně 800 mg p.o. + RTV 2x denně 100 mg p.o.	Nefrolitiáza lipodystrofický syndrom hepatotoxicita inhibice jaterního cytochromu P450
<b>Nelfinavir (NFV)</b>	3x 750 mg p.o. nebo 2x 1250 mg p.o.	Průjem lipodystrofický syndrom inhibice jaterního cytochromu P450
<b>Lopinavir (LPV/r)</b> * *	2x denně 400 mg p.o. + RTV 2x denně 100 mg p.o.	Průjem lipodystrofický syndrom inhibice jaterního cytochromu P450



<b>PŘÍPRAVEK</b>	<b>DÁVKOVÁNÍ</b>	<b>NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY</b>
<b>Amprenavir (APV)</b>	2x denně 1200 mg p.o. nebo 2x denně 600 mg p.o. + RTV 2x denně 100 mg p.o.	Průjem toxoalergický exantém lipodystrofický syndrom
<b>Fosamprenavir (FPV)</b>	2x denně 1400 mg p.o. nebo 2x denně 700 mg p.o. + RTV 2x denně 100 mg p.o.	inhibice jaterního cytochromu P450
<b>Atazanavir (ATV)</b>	2x denně 400 mg p.o. nebo 2x denně 300 mg + RTV 2x denně 100 mg p.o.	Hyperbilirubinemie inhibice jaterního cytochromu P450
<b>Tipranavir (TPV)</b>	2x denně 500 mg + RTV 2x denně 200 mg p.o.	toxoalergický exantém hepatotoxicita inhibice jaterního cytochromu P450 lipodystrofický syndrom průjem
<b>Darunavir (DRV)</b>	2x denně 600 mg + RTV 2x denně 100 mg p.o.	průjem, nausea bolest hlavy toxoalergický exantém

*Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: Medical Management of HIV Infection [5]*

\* ritonavir je v současné době používán v léčbě HIV infekce prakticky výhradně jako farmakokinetický booster (látka podávaná v malém množství potencující účinek jiného léku)

\*\* lopinavir je výrobcem dodáván pouze v kombinovaném přípravku společně s nízkou dávkou ritonaviru, který slouží jako farmakokinetický booster (Kaletra<sup>®</sup>)

Další skupinou moderních antiretrovirových léčiv jsou tzv. inhibitory fúze, viz tabulka č. 5. Tato skupina účinkuje na samém začátku virové replikace a je založena na zabránění adheze membránových virových glykoproteinů gp41 na molekulu CD4 cílové buňky. Inhibitory fúze byly dlouho považovány za záložní antivirotika, rezervovaná pro pacienty s mnohočetnou resistencí, intolerancí k jiné léčbě, nebo pro pacienty nereagující jinou léčbu. [28]

Tabulka č. 5: **Inhibitory fúze**

PŘÍPRAVEK	DÁVKOVÁNÍ	NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY
<b>Enfuvirtid (ENF)</b>	2x denně 90 mg subkutánně	Lokální reakce v místě vpichu Bolest hlavy, nespavost Periferní neuropatie

*Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: Medical Management of HIV Infection [5]*

Na samém počátku interakce HIV s cílovou buňkou účinkuje rovněž skupina antagonistů chemokininových koreceptorů RANTES, viz tabulka č. 6, která byla do klinického užívání uvolněna v roce 2006. Principem účinku této skupiny virostatik je alosterická vazba na chemokininový koreceptor, který se podílí na spojení virového proteinu gp120 s epitopem CD4, a nemůže tak dojít k dokonalému stabilnímu spojení viru HIV s cílovou buňkou. [5] Přichycení HIV na povrch buňky a jeho následné splynutí s ní je totiž složitý několikastupňový proces, v jehož průběhu se virový glykoprotein gp120 nejprve uchytí na receptor CD4, pro úspěšnou fúzi je však zapotřebí ještě podpůrné spojení viru s chemokininovým koreceptorem. Tuto úlohu plní právě chemokinové receptory RANTES - buďto receptor CCR5 nebo receptor CXCR4. Výběr koreceptoru není náhodný, protože existují dvě linie HIV s odlišnou afinitou k chemokininovým koreceptorům. Kmeny tzv. M-tropní (též R5) se váží na receptor CCR5, naproti tomu kmeny, tzv. T-tropní (též X4), využívají vazbu na koreceptor CXCR4. Před zahájením léčby, v praxi zatím CCR5 antagonisty, je proto nutné provést i vyšetření tropismu viru k těmto receptorům. Dosud jediným zástupce této skupiny je maravirok, který je v současné době indikován k léčbě pacientů s rezistencí na antiretrovirotika první volby. [28]

Tabulka č. 6.: Antagonisté koreceptoru CCR5

PŘÍPRAVEK	DÁVKOVÁNÍ	NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY
<b>Maravirok</b>	2x denně 300 mg p. o.	nauzea hepatotoxicita bolest hlavy

*Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: Medical Management of HIV Infection [5]*

Poslední a nejmodernější skupinou léků k léčbě infekce HIV jsou inhibitory HIV integrázy, viz tabulka č. 7, uvedené do klinické praxe teprve v roce 2007. [28] Jejich účinek spočívá v inhibici funkce HIV integrázy, která zajišťuje integraci provirové DNA do chromozomu hostitelské buňky. Inhibitory integrázy byly původně povolené pouze pro léčbu pacientů s multirezistencí, v současné době ale byla jejich indikace rozšířena o použití v první linii léčby cART.

Tabulka č.7: Inhibitory HIV integrázy

PŘÍPRAVEK	DÁVKOVÁNÍ	NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY
<b>Raltegravir</b>	2x denně 400 mg p.o.	průjem nauzea bolest hlavy horečka
<b>Elvitegravir*</b>	1x denně 150 mg.p.o.	únavy bolest hlavy nauzea průjem

\* v současné době dostupný pouze jako kombinovaný přípravek Stribild (elvitegravir + cobicistat + emtricitabin + tenofovir)

*Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: Medical Management of HIV Infection [5]*

## 1.2.4 Léky užívané k profylaxi oportunních infekcí

Při poklesu množství CD4+ T lymfocytů v periferní krvi pod 200 buněk /  $\mu$ l, existuje vysoké riziko rozvoje oportunních infekcí. Takového pacienta musíme kromě účinné antiretrovirové léčby zajistit i profylakticky proti vzniku nejčastějších závažných oportunních infekcí. Jedná se zde o takzvanou primární profylaxi, kdy oportunní infekce ještě nevypukla, ale její rozvoj lze v krátké době očekávat. Nejčastěji jde o profylaxi mozkové toxoplazmózy (původce *Toxoplasma gondii*), pneumocystové pneumonie (původce *Pneumocystis jirovecii*), tuberkulózy (původce *Mycobacterium tuberculosis*) a atypickým mykobakteriózám (původce *Mycobacterium avium* complex), jak uvádí tabulka č. 8.

Po prodělané oportunní infekci zajišťujeme pacienta profylakticky rovněž, a to z důvodu zamezení recidivy infekce, zde se jedná o takzvanou sekundární profylaxi. Nejčastější sekundární profylaxe je směřovaná proti herpetickým infekcím (původce *CMV*, *HSV* a *VZV*), kryptokokové meningitidě (původce *Cryptococcus neoformans*), histoplasmóze (původce *Histoplasma capsulatum*) a kokcidiomykóze (původce *Coccidioides immitis*), jak rovněž uvádí tabulka č. 8. Profylaxi je možno ukončit až na základě zlepšení imunitního profilu pacienta, respektive při zvýšení a stabilizaci hodnot CD4+ T lymfocytů nad 200 buněk /  $\mu$ l po dobu nejméně 3 – 6 měsíců. [5]

Tabulka č. 8: Doporučené profylaktické režimy (v závorce alternativní přípravky)

PRIMÁRNÍ PROFYLAXE		
ONEMOCNĚNÍ	INDIKACE	PŘÍPRAVEK
<b>TBC</b>	tuberkulínová reakce $\geq 5$ mm nebo expozice TBC	izoniazid 300 mg p.o. (izoniazid 300 mg p.o., rifampicin 600 mg p.o.)
<b>Pneumocystová pneumonie</b>	CD4+ T lymfocyty $< 200/\mu$ l	kotrimoxazol 960 mg p.o. (pentamidin 300 mg v aerosolu 1x měsíčně)

PATOGEN	INDIKACE	PŘÍPRAVEK
<b>Mozková toxoplasmoza</b>	CD4+ T lymfocyty < 100/μl pozitivita IgG	kotrimoxazol 960 mg p.o.(primární profylaxe) pyrimetamin 25 mg p.o. + sulfametoxazol 4x 500 mg p.o. (sekundární profylaxe)
<b>Atypické mykobakteriozy</b>	CD4+ T lymfocyty < 50/μl	klaritromycin 2x 500 mg p.o. (azitromycin 1200 mg p.o. 1x týdně)
SEKUNDÁRNÍ PROFYLAXE		
PATOGEN	INDIKACE	PŘÍPRAVEK
<b>Kryptokokoza</b>	sekundární profylaxe	flukonazol 200 mg p.o.
<b>Histoplazmoza</b>	sekundární profylaxe	itrakonazol 200 mg p.o.
<b>Kokcidiomykoza</b>	sekundární profylaxe	flukonazol 400 mg p.o.
<b>CMV retinitida</b>	sekundární profylaxe	valganciklovir 900 mg p.o.
<b>VZV oční infekce</b>	sekundární profylaxe	acyklovir 400 mg p.o.

*Zdroj: volně podle Bartlett, Gallant, Pham: Medical Management of HIV Infection [5]*

### 1.2.5 Nežádoucí účinky antiretrovirové terapie

Nežádoucí účinky jsou vedle rezistence na terapii druhým nejčastějším důvodem změny nebo přerušení léčby a v konečném důsledku mohou způsobit tak závažné komplikace, že mohou být v některých případech i srovnatelné se závažností oprotunních komplikací. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří naštěstí méně závažné gastrointestinální obtíže, které pozorujeme především u skupin léků proteázových inhibitorů (PI) a nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI), případně toxoalergické kožní reakce, které pozorujeme především u skupin léků nenukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NNRTI) a inhibitorů fúze (FI).

Nejzávažnější toxicitu celkově způsobují léky ze skupiny NRTI, které kromě reverzní transkriptázy viru interagují i s mitochondriální DNA polymerázou buněk organismu a mají tak za následek poruchu funkce

mitochondrií somatických buněk. U postižených jedinců proto dochází k poruchám energetického a lipidového metabolismu, ke vzniku laktátové acidózy, toxické polyneuropatie, myopatie, pankreatitidy či anémie. Na vzniku poruchy lipidového metabolismu se ale vedle NRTI podílí i léky ze skupiny PI, které způsobují redistribuci tukové tkáně, takzvaný lipodystrofický syndrom, s dyslipidemií. Z důvodů dlouhodobé dyslipidemie pak dochází k rozvoji inzulínové rezistence, rozvoji metabolického syndromu, aterosklerozy a jejích komplikací, jako jsou hypertenze, infarkt myokardu nebo cévní mozková příhoda.

Antiretrovirová terapie může působit toxicky rovněž na nervový systém, a to jak na centrální nervový systém (CNS), tak i na periferním nervový systém (PNS). Za neurologickou toxicitu antivirotik jsou zodpovědné především léky ze skupiny NRTI - zalcitabin, stavudin, didanosin a lék ze skupiny NNRTI - efavirenza. Poruchy nervové tkáně mohou mít opět příčinu v dysfunkci mitochondrií s následnou poruchou syntézy neurotransmiterů, syntézy myelinu a syntézy adenosintrifosfátu (ATP) v oxidativním řetězci, anebo mohou souviset i přímo s interakcích metabolitů účinné látky s neurotransmitery. [8] Za méně závažné projevy toxicity CNS se považují subjektivní obtíže, jako jsou například bolesti hlavy, únava, poruchy spánku či zvýšená iritabilita. Mezi středně závažné neurologické nežádoucí účinky dnes řadíme různé neuropsychiatrické poruchy typu bipolární poruchy či úzkostných poruch, které mohou vyústit až v suicidální chování. A mezi nejzávažnější neurologické nežádoucí účinky antivirové léčby patří například toxická periferní neuropatie.

Výskyt klinické manifestace toxické periferní neuropatie je cca u 30 % pacientů, její pravděpodobnost se zvyšuje s přítomností jiných predisponujících faktorů, jako jsou přítomnost diabetes mellitus, HIV neuropatie, abusu alkoholu, drog či deficit vitamínu B12. [35] Toxická periferní neuropatie se projevuje rozvojem zhoršujících se bolestí a parestézií končetin, především dolních, přibližně 3 měsíce po zahájení antiretrovirové terapie a odeznívá během 6 – 8 týdnů po vysazení takové neurotoxické terapie. U části nemocných, přibližně u 30 %, však mohou obtíže dlouhodobě přetrvávat a jejich řešení je problematické. [35] Klinické odlišení toxické neuropatie PNS způsobené léky od HIV neuropatie způsobené pravděpodobně na imunopatologickém podkladě, je obtížné, stejně tak jako rozlišení toxického postižení CNS od HIV encefalopatie a HIV demence. Pro polékový původ obtíží svědčí především časný rozvoj

příznaků po zahájení léčby a především častý ústup obtíží po vysazení neurotoxických léků. [8]

V důsledku porušené funkce mitochondrií, které hrají klíčovou úlohu také v energetickém metabolismu svalů, může toxicita NRTI způsobit i závažnou toxickou myopatii. Opatrnosti je zapotřebí především při kombinacích NRTI se statiny, kde je zvýšené riziko kumulace statinů s rozvojem rhabdomyolýzy svalů.

Závažným, nicméně málo častým nežádoucím účinkem, bývá také útlum kostní dřeně s rozvojem makrocytární anémie nebo neutropenie, způsobený především zástupci NRTI, zidovudinem, stavudin, lamivudin a abacavirem. Obezřetnosti je potřeba především při léčbě těmito preparáty v kombinaci s jinými myelotoxickými léčivy, jako jsou například interferon, ribavirin, kotrimoxazol, pyrimetamin nebo ganciclovir, které mohou způsobit rovněž poruchu krve tvorby, a může tak dojít ke kumulaci nežádoucích účinků. [5]

V rámci nežádoucích účinků antiretrovirové terapie je potřeba ještě zmínit podrobněji imunorestituční zánětlivý syndrom (IRIS). [9] Jedná se o zvláštní typ prudké imunitní reakce organismu manifestující se až po nasazení kombinované antiretrovirové terapie, tedy jako důsledek rapidního zlepšení imunity pacienta. Dochází při ní paradoxně ke zhoršení stávajících nebo dokonce manifestaci latentních oportunních komplikací v různých orgánových systémech. Příkladem manifestace infekčních komplikací v rámci IRIS mohou být mykobakteriózy, herpetické infekce, kryptokokóza anebo hepatitidy; příkladem nádorů Kaposiho sarkom nebo lymfom; a autoimunit lupus erytematosus, psoriáza, sarkoidóza nebo Graves-Basedovova choroba. Po zahájení kombinované antiretrovirové terapie, postihuje IRIS až jednu třetinu pacientů dobře odpovídajících na léčbu, a to především pacienty s primárně velmi hlubokým imunodeficitem před zahájením léčby, s hodnotami CD4+ T lymfocytů < 50 buněk /  $\mu$ l. [36] Prognóza IRIS je ve většině případů dobrá a i při pokračování terapie, většinou spontánně, někdy za podpory kortikosteroidů, odeznívá. Znalost tohoto syndromu je důležitá především v diferenciální diagnostice, kde je potřeba odlišit tento syndrom od klasických forem oportunních komplikací při selhání terapie, případně také od nežádoucích účinků antiretrovirové terapie.

### 1.2.6 Nežádoucí účinky terapie infekce HIV na oko

Kromě celkových nežádoucích účinků jsou u pacientů léčených při HIV infekci popisovány ojediněle i oftalmologické nežádoucí účinky, a to jak u antiretrovirové léčby, tak i u léků užívaných k podpůrné léčbě. Při užívání zidovudinu byl u některých pacientů popisován makulární edém a u části dětských pacientů i malého počtu dospělých užívajících dlouhodobě vysoké dávky didanosinu byly popisovány poruchy retinálního pigmentového epitelu s následným poklesem vizu. [5, 37] U léků efavirenzu a fomivirsenu byla ojediněle popsána retinální toxicita a stejně tak u etravirinu byla popisována porucha vidění s poruchami akomodace. [38] Popisováno v literatuře je rovněž předčasné spuštění mitochondriálního onemocnění Leberovy hereditární atrofie optiku, při užívání NRTI. [39] Toxicky působí rovněž preparáty užívané k léčbě a prevenci mykobakterióz, clofazamine způsobuje vitiliformní makulopatii, u rifabutinu byla popisována toxická panuveitida a ethambutol způsobuje toxickou neuropatii zrakového nervu. [40]



## 2. OČNÍ KOMPLIKACE U INFEKCE HIV

### 2.1 Přehled oportunních očních komplikací u infekce HIV

#### 2.1.1 Infekční oční komplikace u HIV infekce

##### Infekce způsobené běžnými patogeny

Ve skupině HIV pozitivních pacientů dochází k běžným bakteriálním infekcím předního segmentu oka (stafylokoky, streptokoky, enterokoky) přibližně se stejnou incidencí jako u zdravých jedinců. Výrazně častěji však zachytíme virové a plísňové infekce, a to z důvodu poruchy buněčné imunity. Dominantně nalézáme recidivující herpetické infekce virem Herpes simplex (HSV keratitida, HSV keratouveitida), plísňové infekce *Candida albicans* (kandidová konjunktivitida nebo keratitida), a vzácněji i parazitární infekce (mikrosporidiové keratokonjunktivitidy). Časté jsou u HIV pozitivních pacientů rovněž blefaritidy, které mají za následek vysokou četnost syndromu suchého oka a častý výskyt recidivujících chalasií v této skupině pacientů. [41]

Pro léčbu HIV pozitivních pacientů je důležité znát imunitní stav definovaný hodnotami CD4+ T lymfocytů a především mít na paměti vysoké riziko recidiv onemocnění. Proto například některé pacienty s rekurentní HSV keratitidou zajišťujeme dlouhodobě profylaktickou dávkou acykloviru na úrovni 200-400 mg 2 x denně, eventuálně valacyklovirem 500mg 1x denně. Při operačních řešeních, například v případě chalasií, je samozřejmostí dokonalá ochrana chirurga a výkony se provádí za dodržování přísných podmínek na speciálním sále Infekční kliniky.

##### Infekce lidským Cytomegalickým virem

Lidský Cytomegalický virus (CMV) je DNA virus ze skupiny herpetických virů. Pozitivita paměťových protilátek proti CMV v séru dospělé populace je značně vysoká a dosahuje až 60 %. [42] Na rozdíl od imunokompetentních pacientů, může CMV u imunosuprimovaného jedince vyvolávat těžší

keratokonjunktivitidy, uveitidy, anebo i velmi závažné retinitidy. [43] Před zavedením kombinované antiretrovirové terapie byla CMV retinitida jedna z nejčastější oportunních infekčních komplikací sdruženou s infekcí HIV a postihovala až 40% pacientů s AIDS. [6] Klasická CMV retinitida je onemocnění vázané přísně na hluboký imunodeficit a vyskytuje se zásadně pouze u pacientů s hodnotami CD4+ T lymfocytů < 50 buněk /  $\mu$ l. V současnosti se díky zavedení kombinované antiretrovirové terapie počet takových pacientů v západním světě významně snížil, a proto i incidence CMV retinitidy výrazně klesla a pohybuje se ve stádiu AIDS s incidencí pod 5%. [44, 45]

Na přítomnost CMV retinitidy upozorní většinou pacient sám stížností na poruchu vidění a s následným oftalmoskopickým stanovením diagnózy obvykle nebývá problém. Patologické změny na sítnici jsou typické. Na očním pozadí jsou patrna rozsáhlá silně prokrvácená zánětlivá ložiska charakteru bělavých exudátů označovaných jako „cottage cheese and ketchup“, proměňujících se postupně ve žlutavé hemoragické nekrózy [46], viz obrázek č. 1.

Obrázek č. 1 : **CMV retinitida u HIV pozitivního pacienta**



Zdroj: MUDr. Jiří Hynie, Oční oddělení, Nemocnice Na Bulovce, Praha

Změny obvykle začínají v periférii a kolem hlavních cévních kmenů, postupují po zadním pólu centrálně až zasáhnou oblast makuly nebo terč zrakového nervu. Paradoxně nenalzáme u CMV retinitidy výraznější doprovodnou uveitidu, což je dáno především sníženou až nulovou možností vyřazeného imunitního systému reagovat na přítomnost agens obrannou zánětlivou reakcí. Pro stanovení diagnózy je důležité, že u pacientů s počtem CD4+ T lymfocytů  $> 50$  buněk /  $\mu\text{l}$  se klasická CMV retinitida vyskytuje velice zřídka, u pacientů s retinitidou a CD4+ T lymfocytů  $50 - 100$  /  $\mu\text{l}$  je toto onemocnění raritní, a u pacientů s počtem CD4+ T lymfocytů  $> 100$  buněk /  $\mu\text{l}$  je prakticky vyloučené. Při diagnostických rozpacích je možno stanovit přítomnost CMV DNA z předněkomorové tekutiny nebo sklivce pomocí metody PCR, která bývá v tomto případě pozitivní a vede k rychlému potvrzení diagnózy.

CMV retinitida vyžaduje časnou a energickou terapeutickou intervenci, jelikož neléčená končí nevratnou destrukcí sítnice s následnou slepotou. Základem léčby je celkové podávání anti - CMV chemoterapeutik - gancikloviru, foskarnetu anebo valgancikloviru ve stanovených schématech podle doporučení odborných společností. Ganciklovir se podává zpočátku intravenózně v dávce  $5\text{mg} / \text{kg}$  po dobu 2 - 3 týdnů 2 x denně, poté 1 x denně a s možným přechodem na perorální léčbu v dávce 300 - 450 mg denně, což odpovídá i dávce pro sekundární prevenci po proběhlé atace až do zlepšení imunitních parametrů CD4+ T lymfocytů  $> 200$  buněk /  $\mu\text{l}$ . Nevýhoda celkové léčby ganciklovirem spočívá v jeho vedlejších účincích na útlum kostní dřeně, které vyžadují často její přerušování. Modernější intravenózní alternativa gancikloviru je foskarnet a je podávána v dávce  $60\text{mg} / \text{kg}$  3x denně po dobu 2 - 3 týdnů a poté 90 - 120 mg 1x denně; je možné jej podat i intravitreálně v dávce 2,4 mg v 0,1 ml ředění. [47] Látka valganciklovir, prekurzor gancikloviru, je alternativa gancikloviru pro perorální podání. Je lépe snášen a absorbován trávicím traktem, podává se v dávce 900 mg 1x denně, avšak za cenu vyšších nákladů. [5] Další možností u rekurencí a špatné odpovědi na celkovou léčbu je zavedení intraokulárního implantátu s ganciklovirem, který se ponechává v oku a má účinnost až 8 měsíců. Primární profylaxe se u asymptomatických pacientů nepodává a pacienti s hodnotami CD4+ T lymfocytů  $< 100$  buněk /  $\mu\text{l}$  jsou namísto toho většinou posíláni pravidelně v tříměsíčních intervalech k oftalmologickým kontrolám.

## **Infekce virem Varicella - Zoster**

Virus Varicella Zoster (VZV), způsobující pásový opar, je u HIV pozitivních pacientů velice častou infekcí. V průběhu života prodělá jeho ataku až 25 % všech HIV pozitivních pacientů. [48] Pásový opar se může vyskytnout již ve fázi mírného imunodeficitu s hodnotami CD4+ T lymfocytů < 500 buněk /  $\mu$ l, a s prohlubujícím se imunodeficitem stoupá tendence k recidivám, postižení více dermatomů a ke generalizaci onemocnění. Na rozdíl od jiných očních komplikací v rámci infekce HIV, nedošlo v populaci HIV pozitivních pacientů po zavedení kombinované antiretrovirové terapie k významnému poklesu jeho výskytu. [49] Nález pásového oparu u mladšího jedince signalizuje vždy poruchu buněčné imunity a může znamenat i počínající manifestaci infekce HIV. [50, 51] Onemocnění začíná silnou neuralgickou bolestí odpovídajícího dermatomu, která se může objevit i několik dní před erupcí kožních eflorescencí charakteru vesikulobulózní vyrážky. Herpes zoster ophthalmicus (HZO) je označení pro pásovým opar postihující oko a jeho okolí, tedy oblast první a druhé větve trigeminu. Nejčastějšími oftalmologickými projevy jsou záněty víček, spojivek a rohovky s typickými figurami v rohovkovém epitelu, méně často se vyskytuje keratouveitida s typickým postižením funkce zornicového sfinkteru a tvorbou sektorovitých duhovkových atrofí.

Sporadicky se onemocnění manifestuje u imunosuprimovaných jedinců parézami okohybných nervů, nebo jako progresivní retinální nekróza s fulminantním průběhem, podobajícím se CMV retinitidě, s častým rozvojem komplikované katarakty nebo trakční amoce s následnou ztrátou zraku. [52] K většině těchto závažných očních komplikací HZO dochází až během druhého týdne klinických projevů infekce a u části nemocných tak existuje prostor pro zajištění pacienta před těžkým průběhem pomocí antivirotik cílených na herpetické viry. [52-54] Klinický obraz onemocnění VZV je obvykle natolik charakteristický, že v praxi většinou pro stanovení správné diagnózy postačuje. V nejasných případech lze opět virus izolovat, a to buď z obsahu nezkalených vesikul, z předněkomorové tekutiny, anebo sklivce, pomocí metody PCR.

Kauzálním lékem infekce VZV u imunosuprimovaných je acyklovir podávaný celkově intravenózně v dávce 10 mg / kg 3 x denně po dobu 1 týdne, při lehčích postiženích je acyklovir podáván perorálně v dávce 800mg 5x denně. Při nesnášenlivosti či malé odpovědi na léčbu podáváme valacyklovir,

účinnější prekurzor acykloviru určený pro perorální podání. [5, 55] Po odeznění VZV infekce je u HIV pozitivních pacientů rovněž důležité ponechat antivirotika v profylaktické dávce alespoň po dobu tří měsíců ke snížení pravděpodobnosti recidivy onemocnění. [5]

### **Infekce *Treponema pallidum***

Onemocnění syfilis, způsobené spirochetou *Treponema pallidum*, a HIV jsou z důvodu obdobné epidemiologie a společných rizikových faktorů velmi častou koinfekcí. [56] Aktivní syfilis zvyšuje riziko přenosu HIV a obdobný vztah platí i naopak. Přibližně 15 % pacientů s diagnózou syfilis je současně HIV pozitivních, a proto by měl být každý HIV pozitivní pacient vyšetřen i na přítomnost syfilis a naopak. [57] U HIV pozitivních pacientů nebývá klinická manifestace syfilis obvykle typická. Primární stádium je často asymptomatické, průběh choroby a přechod do dalších stádií bývá rychlejší, agresivnější, a s častějším výskytem neurologických a očních komplikací. [58]

Nálezy při očním postižení jsou různorodé a zahrnují konjunktivitidy, přední uveitidy, zadní uveitidy, panuveitidy, chorioretinitidy, papilitidy, případně edém terče zrakového nervu při městnavé papile z postižení mozku. [59] Oční postižení syfilis může být jak jednostranné, tak oboustranné a bývá ve vysokém procentu asociované se zmiňovaným postižením CNS, proto je při oční manifestaci vždy indikováno i neurologické vyšetření. [56, 60-62] Diagnóza syfilis je založena na treponemových testech TPHA (z angl. *Treponema Pallidum Haemagglutination Assay*) nebo TP-PA (z angl. *Treponema Pallidum Particle Agglutination*), jelikož klasické netreponemové testy BWR (Bordett-Wassermanova reakce), VDRL (z angl. *Venereal Disease Research Laboratory*) nebo RPR (z angl. *Rapid Plasma Reagin*) mohou být u HIV pozitivních pacientů falešně negativní. [56] Diagnóza neurosyfilis se pak nejčastěji potvrzuje specifitějším fluorescenčním treponemovým testem (FTA - Abs) nebo stanovením PCR z mozkomíšního moku. [62]

Pro léčbu HIV pozitivních pacientů nejsou konvenční dávky penicilinu dostatečné a musí být proto všichni pacienti přeléčeni schématem pro neurosyfilis. [62, 63] Lékem volby je intravenózní podávání benzylpenicilinu v dávce 4 – 5 miliony IU (z angl. *International Units*) každých 4 - 6 hodin po dobu 14 dní, nebo intramuskulárním podáním prokainbenzilpenicilinu v dávce 3

miliony IU denně s potencováním plazmatických koncentrací penicilinu perorálním probenecidem v dávce 2g na den po dobu rovněž 14 dnů. Probenecid ale u nás v ČR bohužel není registrován. U pacientů alergických na penicilin je možné zkusit podat cefalosporiny, anebo jako krajní alternativu méně účinnou léčbu tetracykliny, erytromycinem případně azitromycinem po dobu 30 dnů. [62, 63]

### **Toxoplazmová infekce**

Toxoplazmóza je nejčastější antropozoonóza v našich podmínkách, způsobuje ji prvok *Toxoplasma gondii*. Seroprevalence protilátek proti toxoplazmóze je v evropské populaci vysoká a pohybuje se kolem 40 %. [64] K infekci dochází nejčastěji kongenitálně transplacentárním přenosem z nakažené matky, méně často konzumací tkáňových cyst v nedostatečně tepelně upraveném mase, anebo ingescí sporocyst při kontaktu s exkrementy nakažené kočky, která slouží v přírodě jako přirozený rezervoár této infekce. Na rozdíl od imunokompetentních pacientů, kde probíhá infekce nejčastěji inaparentně nebo jen s mírnou lymfadenopatií, je u imunosuprimovaných pacientů daleko pravděpodobnější těžký průběh se závažnými komplikacemi jako jsou toxoplazmová encefalitida či toxoplazmová chorioretinitida. Incidence toxoplazmové chorioretinitidy se v populaci HIV pozitivních pacientů pohybuje kolem 1 %, a to především díky zavedení primární chemoprolaxe podáváním kotrimoxazolu 1x denně v obvyklé dávce u pacientů s počtem CD4+ T lymfocytů < 200 buněk /  $\mu$ l. [65, 66]

Nejčastějšími subjektivními příznaky toxoplazmové chorioretinitidy jsou porucha visu, zarudnutí a bolest oka. Na očním pozadí nalézáme okrouhlá, bílá, edematózní ložiska s doprovodnou vitritidou či dokonce panuveitidou, jindy zachytíme v okolí léze dokonce starou ohraničenou pigmentovanou jizvu po proběhlé asymptomatické atace v minulosti. [67, 68] V případě HIV infikovaných pacientů je častější výskyt multifokální toxoplazmové chorioretinitidy a oboustranného postižení očí. Z důvodů častého kombinovaného postižení oka a CNS u HIV infikovaných pacientů, je stejně jako u syfilis, i zde přísně indikováno podrobné neurologické vyšetření. Diagnózu většinou stanovíme na základě klinického nálezu a positivity laboratorních testů.

Pro léčbu akutní toxoplazmové retinitidy u imunokomprimovaných

pacientů se užívá kombinace perorálních antimalarik, antibiotik a kortikosteroidů. Zlatým standardem u HIV pozitivních pacientů je stále podávání antimalarika pyrimethaminu v iniciální dávce 200 mg, následované udržovací dávkou 50 – 75 mg denně, doplněné o folát snižující jeho toxicitu, současně s podáváním sulfonamidového antibiotika sulfadiazinu v dávce 4 – 8 g denně a prednisonu v dávce 1 mg / kg / den. [69] Léčba trvá podle klinických příznaků 4 - 6 týdnů. Po zaléčení akutní fáze navazujeme u HIV pozitivních pacientů plynule sekundární chemoprolaxí pyrimetaminem v dávce 25mg spolu se sulfadiazinem v dávce 2g denně, až do zlepšení imunity charakterizovaného parametry CD4+ T lymfocytů > 200 buněk /  $\mu$ l. [69]

## 2.1.2 Neinfekční oční komplikace u HIV infekce

### Lymfom

Lymfom je v populaci HIV pozitivních pacientů velmi častým onemocněním a vyvine se až u 10 % pacientů. [70] Z pohledu oftalmologie postihují lymfomy nejčastěji očníci a slznou žlázu, s celkovou incidencí kolem 1% všech manifestací. Výrazně méně často bývá postižena kůže víček, spojivka nebo oko. V populaci HIV pozitivních je lymfom četnější, typicky vzniká v mladším věku, je agresivnější, s vyšší proliferativní aktivitou, a hůře odpovídá na léčbu. [70] Mladší pacienti s nálezem lymfomu by proto měli být vždy testováni na HIV. Pro formam je potřeba zmínit, že řádově ještě vyšší podíl lymfomů u HIV pozitivních pacientů se nalézají v rovníkové Africe, kde se vyskytuje především pod obrazem takzvaného Burkittova lymfomu, za jehož původce je v terénu imunodeficitu označován virus Epstein-Barrové.

Orbitální lymfom je nejčastějším nádorem očníce dospělého věku vůbec, projevuje se jako pruhovitý, tuhý, subkutánní či subkonjunktivální útvar lososové barvy prominující do přední části orbity. Na postižené straně bývá přítomna protruze bulby s porušenou motilitou a doprovodnou reakcí předního segmentu oka. Zhruba v polovině případů je orbitální lymfom projevem systémového postižení a je proto třeba nechat pacienta vždy komplexně vyšetřit. [47]

Většina orbitálních lymfomů, a lymfomů spojivky jsou extranodální lymfomy non - Hodgkinského typu vycházející z B lymfocytů, stejně jako

intraokulární lymfomy charakteru primárního lymfomu CNS postihující uveální tkáň a probíhající nejčastěji pod obrazem maskující uveitidy či chorioretinopatie. Raritní lymfomy kůže víček typu mycosis fungoides bývají naopak odvozeny od T lymfocytů.

Pro diagnostiku lymfomu jsou přínosné laboratorní testy, rentgenový snímek hrudníku a ultrasonografie břicha a pánve. Pro adekvátní grading lymfomu je nezbytná biopsie a k vyloučení systémového postižení je možné zvážit i počítačovou tomografii případně celotělové vyšetření pozitronovou emisní tomografií.

Na izolovaný lymfom s nižší proliferativní aktivitou v orbitální oblasti je indikována radioterapie. Léčba agresivnějších a systémových forem lymfomu vyžaduje kombinaci radioterapie a chemoterapie. V posledních letech je rovněž dostupná i nejmodernější biologická léčba pomocí monoklonálních protilátek. Výsledky biologické léčby jsou proti chemoterapii lepší, a to především pro nižší počet nežádoucích účinků, avšak za cenu výrazně vyšších nákladů. [3]

### **Kaposiho sarkom**

Kaposiho sarkom je vysoce vaskularizovaný tumor způsobený herpetickým virem Human herpesvirus 8 (HHV – 8). [71] V běžné populaci je Kaposiho sarkom raritní nemocí, ale v populaci imunodeficitních pacientů se vyskytuje relativně často. Výskyt Kaposiho sarkomu je pro HIV pozitivní pacienty typický, nicméně v dnešní době v našich geografických oblastech vzácný. [70, 72, 73] Jiná situace je stejně jako u lymfomu v subsaharské Africe, kde se Kaposiho sarkom vyskytuje v HIV pozitivní populaci s prevalencí až 25%, včetně okulárních forem tvořící přibližně 1/5 z tohoto počtu. [74]

Kaposiho sarkom je primárně kožní nádor, projevuje se přítomností rudohnědých kožních uzlíků kdekoliv po těle. Z pohledu oftalmologie se Kaposiho sarkom objevuje nejčastěji na kůži víček a méně často na spojivce, kde se projevuje jako rudě zbarvený granulomatozní útvar podobný pyogennímu granulomu či melanomu. [75]

Terapie Kaposiho sarkomu v oční lokalizaci spočívá v první řadě v úpravě imunodeficitu antiretrovirovou terapií a následně v chirurgickém odstranění útvaru alespoň s 2 mm ochranným lemem, v úvahu připadá i odstranění kryoterapií nebo laserem.



## HIV retinopatie

HIV retinopatie, viz obrázek č. 2, je nejčastější neinfekční oportunní oční komplikací u HIV pozitivních pacientů. Vyskytuje se především ve stádiu hlubokého imunodeficitu charakterizovaného počtem CD4+ T lymfocytů < 200 buněk /  $\mu$ l. Jedná se o mikroangiopatii s doposud nezcela jasnou patogenezi vzniku, nejpravděpodobněji na principu imunokomplexové etiologie. [76, 77] Před érou cART se vyskytovala až u 70 % pacientů ve stádiu AIDS, v současnosti její výskyt díky úspěchům kombinované antiretrovirové terapie výrazně poklesl, jelikož v méně pokročilých stádiích HIV infekce, u pacientů s počty CD4+ T lymfocytů > 500 buněk /  $\mu$ l, se tato porucha vyskytuje velmi vzácně, přibližně asi v 1 %. [78] HIV retinopatie bývá nejčastěji náhodným nálezem při kontrolách očního pozadí HIV pozitivních pacientů. Nález je benigní povahy bez subjektivních klinických projevů a neznamena ohrožení zraku. Pacienti obvykle neudávají žádné poruchy vidění, výjimečně byly v literatuře popisovány drobné skotomy odpovídající rozsahu ložisek. [79]

Na očním pozadí se nacházejí intraretinální hemoragie a mikroaneurysmata charakterizující ischemii hlubších vrstev sítnice a třískovité hemoragie a vatovité exudáty (CVS, z angl. *cotton - wool spots*), které odpovídají mikroinfarktům povrchových vrstev sítnice a svým charakterem připomínají postižení sítnice při jiných systémových onemocněních jako je diabetes mellitus, systémová hypertenze či anemie. Vatovitá ložiska často v průběhu několika týdnů spontánně mizí, ale pro přetrvávání základní příčiny dochází k častým relapsům jinde. [77]

Vzhledem k nepřítomnosti subjektivních obtíží a spontánnímu ústupu nálezu na očním pozadí nevyžaduje HIV retinopatie žádnou léčbu, její význam je především diagnosticko – prognostický. HIV retinopatie totiž obvykle znamená progresi HIV infekce s poklesem imunitních parametrů, anebo selhání léčby u již léčených pacientů. Při nálezu HIV retinopatie je proto vhodné u pacienta stanovit aktuální hodnotu CD4+ T lymfocytů, zvážit možnou rezistenci na stávající terapii, případně nasadit antiretrovirovou terapii. V některých případech je nález na sítnici dokonce první manifestací HIV positivity a vede tak k odhalení HIV infekce následnými laboratorními testy. [77] Pro diferenciální diagnostiku je velice důležité odlišit projevy HIV retinopatie od příznaků typických pro infekční retinitidu, kde hrozí rychlý rozvoj ireverzibilní ztráty zraku.

Obrázek č. 2 : HIV retinopatie s četnými vatovitými exudáty



Zdroj: MUDr. Jiří Hynie, Oční oddělení, Nemocnice Na Bulovce Praha

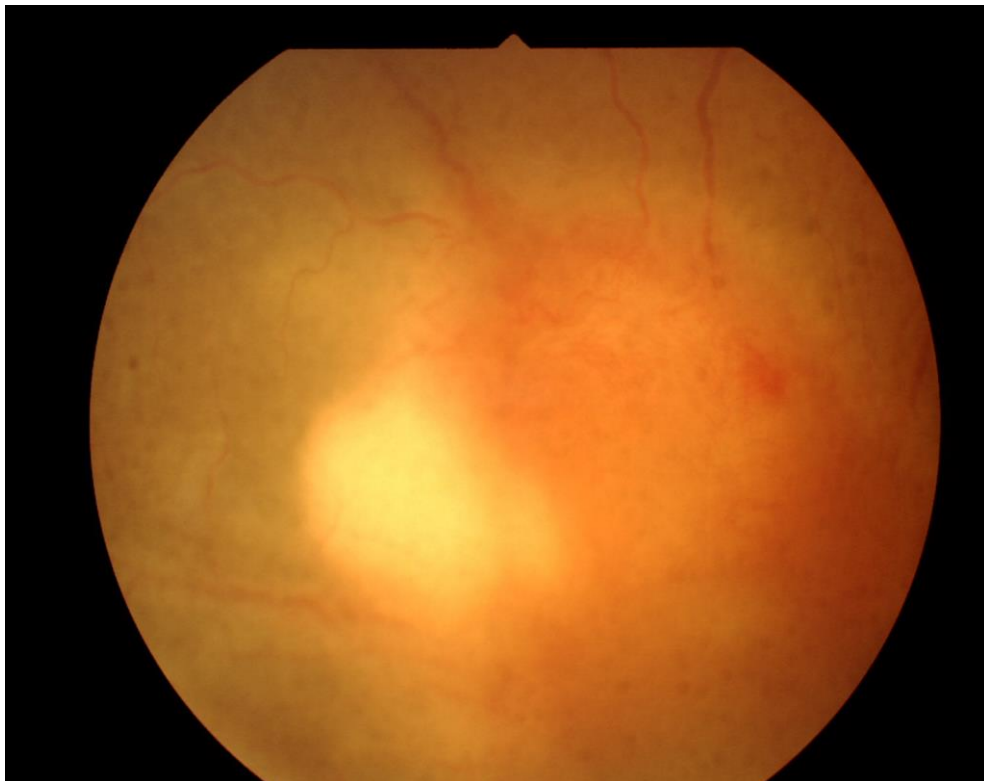
### **Uveitida podmíněná zotavením imunity (IRIS)**

V souvislosti se zavedením kombinované antiretrovirové terapie u HIV pozitivních pacientů se v posledních letech objevila nová oční klinická jednotka, takzvaná uveitida podmíněná zotavením imunity, která se vyskytuje v rámci rekonstituce imunitního systému (IRIS). [9] Jak již bylo zmíněno v předchozím textu o HIV, IRIS je zvláštním typem prudké zánětlivé reakce, která se objevuje až u třetiny pacientů v souvislosti se zahájením antiretrovirové terapie a paradoxně způsobuje zhoršení již existujících nebo manifestaci latentních oportunních infekcí. [36, 80] Přesná etiopatogeneze vzniku této klinické jednotky není doposud zcela jasná, příčinou se zdá být pravděpodobně imunopatologická odpověď buněčné imunity, způsobená jejím prudkým zlepšením, na preexistující latentní patogeny nebo jejich residua.

Postižení oka v rámci IRIS je většinou podmíněno přítomností staré inaktivní infekční léze oka, například CMV, toxoplazmózy, TBC nebo kryptokokózy, jak ilustruje například obrázek č. 3. [81] V anamnéze pacienta

figuruje těžký imunodeficit s CD4+ T lymfocytů < 50 buněk /  $\mu$ l s následným nasazením kombinované antiretrovirové terapie a dobrou odpovědí na ni. Vznik obtíží je typický s odstupem několika týdnů po zahájení kombinované antiretrovirové terapie, u pacientů s hodnotami CD4+ T lymfocytů > 100 buněk /  $\mu$ l a výlučně u responderů na terapii. Incidence uveitidy podmíněné zotavením imunity při HIV je cca u 20 - 40% antiretrovirových léčených HIV pozitivních pacientů s historií infekční léze oka. [82] Postižený pacient si nejčastěji stěžuje na zamlžené vidění a zmnožené plovoucí zákalky na postiženém oku. Vyšetření může odhalit přední uveitidu, zadní uveitidu nebo panuveitidu různé intenzity a často staré jizevnaté ložisko bez známek výraznější aktivity. Udává se, že například velikost jizevnatých ložisek CMV retinitidy bývá přímo úměrná intenzitě uveitidy podmíněné zotavením imunity. [81]

Obrázek č. 3 : **Ojedinělá kryptokoková retinitida bez postižení CNS v rámci IRIS**



*Zdroj: MUDr. Alena Landová, Oční oddělení, Nemocnice Na Bulovce, Praha*

V léčbě se doporučují dle klinického nálezu systémové, parabulbární i lokální kortikosteroidy. [83] Antiretrovirová terapie se většinou nepřerušuje. [28] Systémové podání antibiotik či anti - CMV chemoterapeutik se odvíjí od

klinických známek aktivity primární léze na sítnici a je předmětem kontroverzí. Těžká progredující a neléčená uveitida může vážně ohrozit zrak pacienta především následnými komplikacemi. Mezi nejčastější takové komplikace uveitid je považován vznik epiretinálních membrán, cystoidního makulárního edému anebo katarakty. V některých těžších případech mohou jako komplikace vzniknout i neovaskularizace, hemoftalmus a trakční amoce, v jiných případech se může rozvinout těžký neovaskulární glaukom. [84]

### **Neurooftalmologické komplikace**

Vzhledem k tomu, že manifestní postižení CNS v rámci HIV infekce zastihneme během života až u 50% HIV pozitivních pacientů a histopatologické studie potvrzují subklinické poškození CNS a zrakového nervu dokonce u 75 - 90% HIV pozitivních pacientů, jsou z hlediska mezioborové spolupráce zajímavou skupinou i neurooftalmologické poruchy, které se nalézají v populaci HIV pozitivních pacientů s klinickou manifestací přibližně v 3 - 8%. [85] Neurooftalmologické poruchy jsou popisovány jak u asymptomatických pacientů, tak i u pacientů s těžkým AIDS. Mezi tyto stavy asociované s HIV infekcí řadíme nejčastěji oko-hybné poruchy, optické neuropatie, edém nebo atrofie terče zrakového nervu a poruchy zorného pole. [86]

Nejčastější z neurooftalmologických postižení u HIV pozitivních pacientů jsou oko-hybné poruchy, tvořící zhruba polovinu všech neurooftalmologických manifestací. Ve dvou třetinách případů, se jedná o supranaukleární poruchy na úrovni kortexu (například poruchy sakád, pomalých sledovacích pohybů a nystagmus), méně často o poruchy na úrovni mezencefalu (například Parinaudův syndrom) nebo mozkového kmene (například internukleární oftalmoplegie). Ve zbývající jedné třetině se jedná o poruchy na úrovni okulomotorických jader a nervů, s nejčastěji unilaterálním postižením nervu abducens nebo okulomotorius, které dokonce prezentovala nedávno naše skupina na jednom z HIV pozitivních pacientů s Adieho syndromem, což je postižení ciliárního ganglia s následnou pupilotonií asociovaná s poruchou šlachových reflexů končetin, viz obrázek č. 4 na následující straně. [87]

Obrázek č. 4 : Pacientka s pupilotonií vlevo při Adieho syndromu v rámci HIV neuropatie



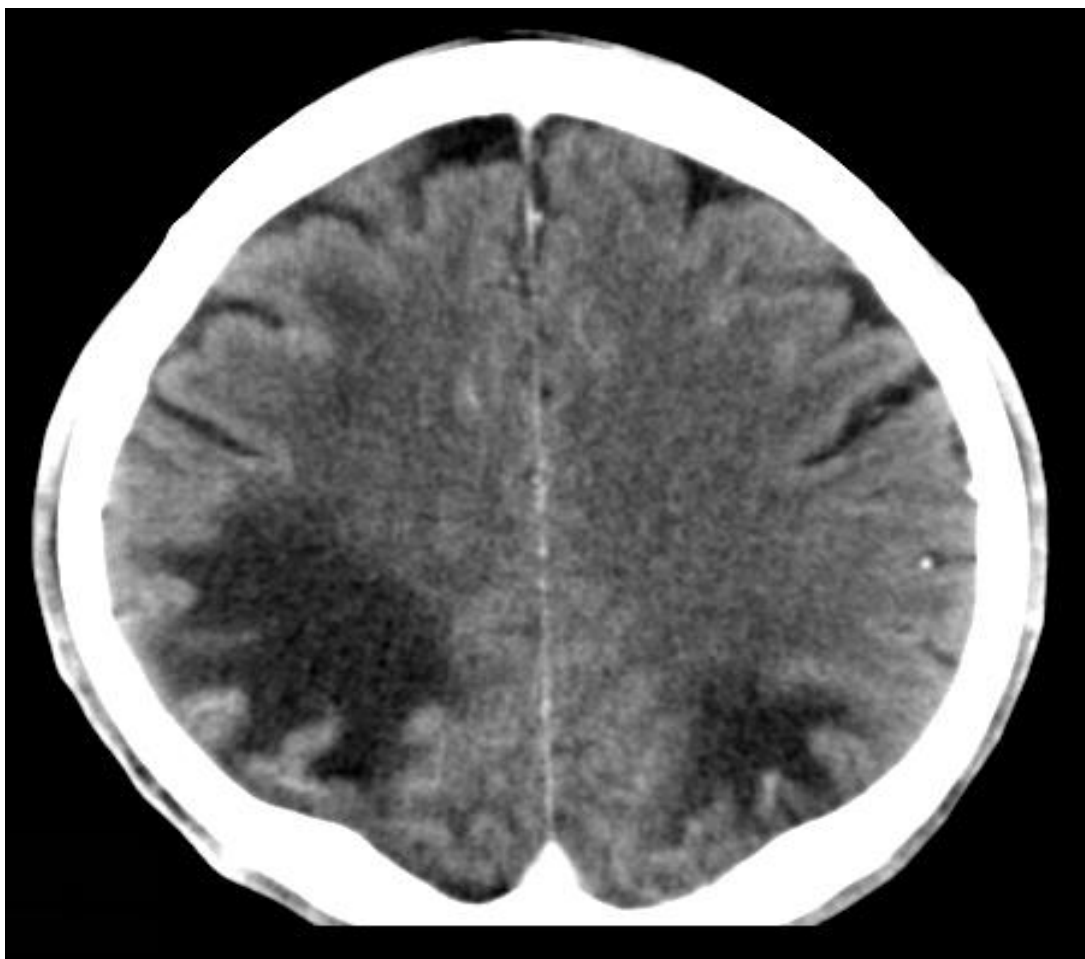
Zdroj: MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc., Infekční klinika, Nemocnice Na Bulovce, Praha

Druhou nejčastější neurooftalmologickou manifestací, tvořící zhruba třetinový podíl neurooftalmologických poruch jsou optická neuropatie, případně edém a atrofie papily zrakového nervu. Jedná se o poruchy zrakového nervu způsobující z různých příčin ztrátu nervových vláken, a v extrémním případě končící až totální atrofií zrakového nervu s následnou slepotou. Nejčastěji je tento stav způsoben neuroretinitidou a papilitidou, tedy zánětlivými stavy ve spojení s infekcí oka toxoplazmové, syfilitické, CMV, VZV či kryptokokové etiologie. Další stavy, které se mohou podílet na neuropatii zrakového nervu jsou přední ischemická neuropatie, nejčastěji asociovaná s autoimunní vaskulitidou nebo předčasným aterosklerotickým postižením arteriae ciliares u HIV pozitivních pacientů, případně retrobulbární postižení zrakového nervu asociované s postižením CNS, jako jsou toxoplazmová, kryptokoková či tuberkulózní meningoencefalitida, lymfomy, anebo i HIV demence, onemocnění zatím nezcela jasné etiologie, pravděpodobně s imunopatologickým podkladem. [8, 88, 89]

Zbytek neurooftalmologických poruch u HIV pozitivních pacientů připadá na poruchy zorného pole, a to jednak na defekty způsobené ložiskovým

postižením sítnice a zrakových nervů, a jednak ložiskovým postižením CNS při afekcích vyskytujících se v průběhu zrakových drah nebo zrakových center, a v extrémní případě se manifestujících až kortikální slepotou. V etiologii těchto stavů převládají infekční činitelé (například toxoplazmóza, HSV, VZV, CMV, TBC, kryptokokóza, histoplazmóza, polyomavirus JC), ischemie (například ateroskleróza, imunokomplexová vaskulitida, anemie, koagulopatie), nebo nádory (například primární lymfom CNS), ale bohužel také v mnoha případech zůstává příčina neobjasněna. [8] MRI sken mozku u pacienta s korovou slepotou při progresivní multifokální leukoencefalopatii způsobené JC virem ilustruje následující obrázek č. 5.

Obrázek č. 5 : MRI sken mozku při progresivní multifokální leukoencefalopatii



Legenda: progresivní multifokální leukoencefalopatii s postižením bílé hmoty obou mozkových hemisfér s predominancí změn v parieto-okcipitálních oblastech způsobujících úplnou kortikální slepotu pacienta [8]

Zdroj: MUDr. Miroslav Kašpar, CSc., Radiodiagnostická klinika, Nemocnice Na Bulovce

## 2.2 Vývoj oportunních očních komplikací u infekce HIV

Oční komplikace u HIV pozitivních pacientů prodělaly za posledních 20 let výrazné změny. [3, 47] Je to dáno především zavedením kombinované antiretrovirové terapie (cART), která dokáže s vysokou účinností u většiny pacientů stabilizovat nebo i zlepšit buněčnou imunitu na velmi uspokojivou úroveň. Nové pomocné metody jako je například PCR virové RNA nám zase umožňují detailně sledovat aktivitu virové replikace a nepřímo tak spolu s počty CD4+ T lymfocytů hodnotit efekt nasazené terapie. Zavedení cART znamenalo v západním světě výrazné snížení počtu pacientů v hlubokém imunodeficitu a rovněž snížení časového úseku, kdy se v takovém imunodeficitu pacienti nacházejí. Zlepšení imunitního stavu populace HIV pozitivních pacientů má za následek výrazný pokles incidence některých závažných klasických oportunních očních komplikací jako je CMV retinitida nebo toxoplazmová chorioretinitida. Pokles výskytu těchto závažných oportunních infekcí podpořilo i zavedení chemoprophylaktických schémat v infektologii. Přes všechno úsilí se však závažné oportunní komplikace stále sporadicky objevují. Je to dáno tím, že se vyskytují nově pacienti s rezistencí k cART, existují pacienti neužívající doporučenou léčbu, nebo jsou tu pacienti, u kterých nebyla HIV infekce dosud rozpoznána a oční komplikace je prvním příznakem infekce HIV. [3] Na druhé straně prevalence některých oportunních infekcí jako jsou infekce virem Herpes Simplex, Varicella Zoster či onemocnění syfilis zůstávají přibližně na stejné hladině, a jejich výskyt tedy dokonce v relativních číslech narůstá. [3] V prvních dvou případech je to dáno především vyšší virulencí těchto herpetických virů, které se dokážou manifestovat již při malé poruše buněčné imunity. Ve třetím případě je to dáno spíše nárůstem rizikového chování některých sociálních skupin, které jakoby ztratily obavy z onemocnění v dnešním světě moderních antiretrovirotik, s nadějí na slušné dožití i s infekcí HIV. Jiná situace je samozřejmě v rozvojových zemích, kde je přes všechny snahy zanedbávaná jak prevence, tak i nedostatečně financovaná nákladná antivirová léčba. Četnost HIV infekce a AIDS je proto v rozvojových zemích výrazně vyšší a zároveň s tím v těchto oblastech světa zůstává i vysoká četnost závažných klasických oportunních komplikací.

Z pohledu současné oftalmologie tak v našich ambulancích dominují u HIV pozitivních pacientů z infekčních oportunních komplikací především recidivující chalasia a recidivující herpetické infekce způsobené virem HSV. Velmi časté jsou i infekce způsobené virem VZV v oční lokalizaci, které se vyskytují u výrazně mladších pacientů než je obvyklé - ve druhé až třetí dekádě, hůře reagují na léčbu, a jsou asociovány s vyšším podílem recidiv i těžkých forem postižení rohovky přecházejících do jizevnatých stadií. Častým nálezem, který dnes u HIV pozitivních pacientů vídáme je koinfekce HIV infekce se syfilis. Okulární syfilis nejčastěji zachytíme v sekundárních stadiích onemocnění a jedná se především o chorioretinitidy asociované se zadní uveitidou či panuveitidou, méně často nalézáme papilitidu, městnavou papilu při postižení CNS nebo primární léze v oblasti spojivkového vaku. Ve většině případů syfilitického postižení oka je z našich zkušeností pozitivní i nález v mozkomíšním moku, který potvrzuje časná stadia neurosyfilis. Těžká toxoplazmová chorioretinitida bývá rovněž častým nálezem, a to především u profylakticky nazajištěných pacientů s těžkým imunodeficitem, a navíc bývá rovněž ve velkém procentu sdružena s toxoplazmovým postižením CNS. Méně často dnes v našich ambulancích zaznamenáváme kryptokokovou chorioretinitidu, VZV retinitidu nebo CMV retinitidu. Z neinfekčních oportunních komplikací vídáme relativně často syndrom suchého oka, HIV retinopatii, neurooftalmologické poruchy, orbitální i nitrooční lymfomy a v posledních letech jsme zaznamenali i několik případů uveitid podmíněných zotavením imunity při léčbě HIV pacientů v důsledku nasazení cART; jednalo se buďto o reakci v terénu jizev CMV retinitidy, kryptokokové retinitidy, toxoplazmové chorioretinitidy nebo herpetické keratitidy.

Další klinické jednotky, v jejichž rámci by mohlo být například i hypotetizované poškození retinálních nervových vláken nejasné etiologie, kterým se zabýváme v naší studii, však na své objasnění stále čekají.



# **3. ANALÝZA VRSTVY RETINÁLNÍCH NERVOVÝCH VLÁKEN U HIV POZITIVNÍCH PACIENTŮ V ÉŘE KOMBINOVANÉ ANTIRETROVIROVÉ TERAPIE**

## **3.1 Stanovení cílů a hypotéz**

V posledních letech naznačily některé studie u HIV pozitivních pacientů úbytek nervových vláken na sítnici (RNFL) bez jiné zjevné sítnicové patologie. [90-94] Přesný mechanismus takového úbytku nervových vláken však není znám. Při patologických zkoumáních byla z některých optických nervů izolována HIV RNA. [95] Ultrastrukturálně byly objeveny některé známky apoptózy gangliových buněk, charakterizované především změnami gliové tkáně zrakového nervu, zahrnující například vakuolizaci a hypertrofii oligodendrocytů nebo množství nalezených makrofágů v poškozených nervech. [96] Někteří autoři přisuzují postižení RNFL, tedy axonů gangliových buněk tvořících zrakový nerv, mikrovaskulární ischemii, jiní vidí příčinu v invazi virem nakažených leukocytů do sítnicových struktur. Studie se však rozcházejí v závěrech a úbytek nervových vláken na sítnici tak zatím zcela jednoznačně potvrzen nebyl, stejně tak jeho možný příčinný mechanismus. [90-92, 97] K ověření stavu RNFL u HIV pozitivních pacientů jsme proto realizovali observační studii, v které jsme si stanovili následující cíle.

### **Cíle práce:**

***1) stanovení parametrů RNFL v souboru HIV pozitivních pacientů pomocí laserového polarimetru, přístroje GDx VCC a porovnání tloušťky RNFL souboru pacientů s normální populací***

***2) stanovení korelací RNFL k možným příčinným faktorům jejího eventuelního úbytku:***

***a) stanovení korelace tloušťky RNFL k době trvání HIV infekce***

***b) stanovení korelace tloušťky RNFL k imunitnímu profilu pacienta***

***c) stanovení korelace tloušťky RNFL k typu použité antiretrovirové terapie***

## **3.2 Metodika a zpracování**

### **3.2.1 Soubor pacientů**

Do souboru byli zařazeni pacienti sledovaní v AIDS centru Infekční kliniky, Nemocnice Na Bulovce, kteří podepsali informovaný souhlas se svou účastí. Ke statistické analýze byli vybráni pacienti na základě splnění následujících kriterií:

- *HIV seropozitivita (HIV-1, subtyp B)*
- *dokumentovaná délka HIV infekce*
- *dokumentovaná historie počtu CD4+ T-lymfocytů a virové nálože*
- *dokumentovaná historie antiretrovirové léčby*
- *korigovaná zraková ostrost 0,8 a lepší s refrakčním limitem  $\pm 3$  dioptrie sférického ekvivalentu*
- *normální vzhled zrakového nervu a normální nitrooční tlak*
- *normální nález ve sklivci a na sítnici*
- *normální zorné pole potvrzené screeningovým peritestem*
- *negativní anamnéza očního postižení nebo jiného systémového onemocnění kromě HIV, které by mohlo ovlivnit sítnicové struktury.*

### **3.2.2 Struktura oftalmologického vyšetření**

Pacienti prošli komplexním oftalmologickým vyšetřením zahrnujícím vyšetření refrakce na autorefraktometru (Nidek ARK-560A), stanovení zrakové ostrosti na Snellenových optotypech, měření nitroočního tlaku bezkontaktním tonometrem (Nidek NT 530/510), vyšetření předního segmentu oka na štěrbinové lampě, vyšetření zadního segmentu oka biomikroskopicky i nepřímou oftalmoskopií v arteficiální mydriáze, vyšetření zorného pole screeningovým peritestem se 120 body (Humphrey Field Analyzer II) a sken RNFL vytvořený pomocí laserového polarimetru (GDx VCC, software 5.5.0, Carl Zeiss Meditec)

### **3.2.3 Vyšetření nervových vláken sítnice**

Přístroj GDx je skenovací laserový polarimetr, který pracuje jako konfokální mikroskop na fyzikálním principu laserové polarimetrie. [98] Tato metoda je založena na snímání peripapilární sítnice pomocí diodového laseru o vlnové délce 750 nm v rozsahu 15° kolem terče zrakového nervu. Paprsek je vychylován přes clonku přístroje tak, že během 0,7 sekundy nasnímá 65 536 bodů, respektive 256 x 256 obrazových elementů, pixelů. [98]

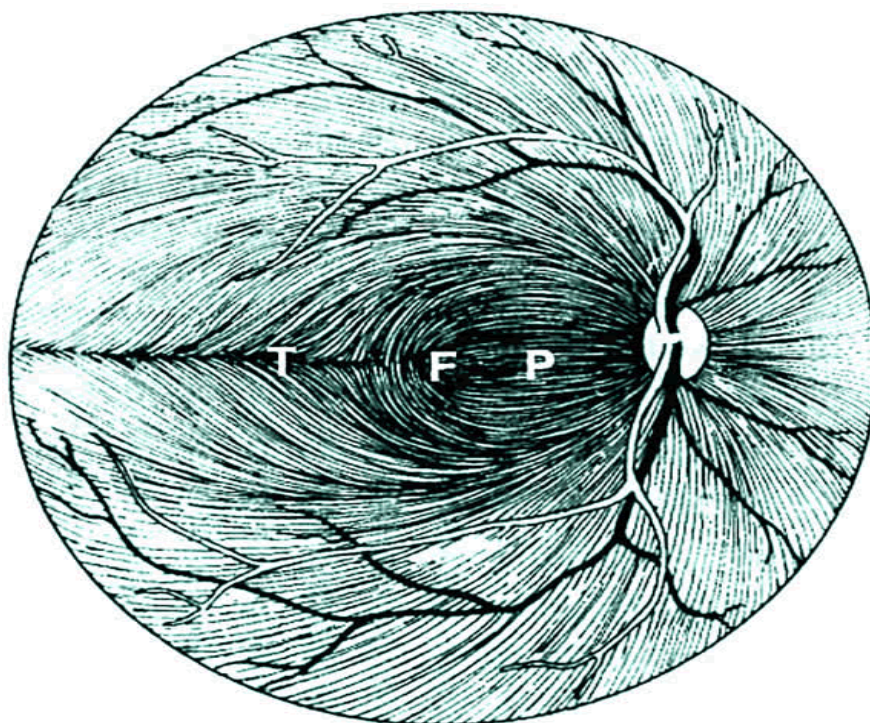
Laserový paprsek při prostupu povrchovými tubulárními strukturami sítnice, tedy především mikrofibrilami a eliptickými organelami axonů, vykazuje v důsledku výrazné prostorové asymetrie těchto struktur dvojlom. [99] Obecně je laserový paprsek primárně polarizovaný s vektorem intenzity elektrického pole kmitajícím pouze v jedné rovině. V důsledku dvojlomu ale dochází k rozdělení paprsku na takzvaný paprsek řádný, který si udržuje svou rovinu polarizace nezměněnou a prochází prostředím konstantní rychlostí, a takzvaný paprsek mimořádný, který má rovinu polarizace stočenou o 90° oproti primárnímu, a při průchodu prostředím směřuje přes fibrilární struktury napříč. Rychlost příčně probíhajícího mimořádného paprsku je fázově posunuta a zpomalována, a to přímo úměrně tloušťce vrstvy sítnice obsahující tubulární struktury, tedy vrstvě axonů gangliových buněk – RNFL, které se na sítnici sbíhají a vytváří posléze zrakový nerv. Po průchodu vrstvou nervových vláken jsou laserové paprsky odraženy od hlubokých vrstev sítnice zpět do detekčního zařízení, kde je

zaznamenán fázový rozdíl detekce řádného a mimořádného paprsku, tedy paprsků s odlišnou rovinou polarizace. Tento fázový posun, takzvaná retardace mimořádného paprsku, je přímo úměrný výsledné polarimetrické tloušťce RNFL. Po matematickém propočtu odpovídá jeden stupeň retardace 3 mikronům polarimetrické tloušťky sítnicových struktur, respektive RNFL, což je i rozlišovací mez přístroje. [100] Tento fixní přepočten byl stanoven na základě výsledků srovnání retardace a histopatologického měření tloušťky RNFL na modelech opic s prokázanou korelací opičích modelů k lidské sítnici. [101]

Jelikož kromě RNFL sítnice musí laserový paprsek projít ještě jinými tubulárními strukturami oka, které způsobují dvojlom, to znamená rohovkovými a čočkovými mikrofibrilami, musí být skenovací laserový polarimetr vybaven ještě systémem kompenzujícím tyto artefakty měření. Dřívější systém fixních kompenzací užívaný v první generaci přístroje GDx počítal s průměrnou retardací paprsků na základě průchodu fibrilárními strukturami předního segmentu oka, nezohledňoval individuální anatomické poměry jednotlivých pacientů, a byl proto nahrazen systémem variabilních rohovkových kompenzací VCC (z angl. *Variable Corneal Compensation*), který je schopen odfiltrovat rušivý vliv těchto struktur na měření přísně individuálně na základě níže uvedeného principu. Přístroj GDx VCC, s kterým provádíme naše měření, provede celkem dvě měření. V prvním měření změří celkovou dvojlomnost a rovinu polarizace paprsků při průchodu všemi strukturami oka s fokusací na oblast žluté skvrny (*macula lutea*), a podle uniformního typického průběhu makulárních vláken RNFL je schopen následně odfiltrovat ostatní struktury a stanovit tak dvojlom struktur předního segmentu oka a RNFL zvlášť. Při druhém měření je pak přístroj fokusovaný na terč zřetivého nervu schopen změřit pouze hodnoty RNFL očištěné o artefakty vzniklé průchodem paprsků strukturami předního segmentu oka. [102]

Morfologie sítnice determinuje RNFL pro dobrý dosah ke zkoumání a měření, jelikož jsou jednotlivé struktury sítnice poskládány tak, že RNFL je uložena zcela na vnitřním povrchu sítnice, na rozdíl od ostatních struktur sítnice uložených hlouběji. Normální rozložení vrstvy nervových vláken má navíc svou charakteristickou vějířovitou architektoniku, viz obrázek č. 6. Vlákna RNFL probíhají paprscitě z periferie směrem k papile zřetivého nervu, za respektování horizontální středové linie protínající makulu a papilu, takzvaného raphe.

Obrázek č. 6: architektura průběhu RNFL po povrchu sítnice



Legenda: temporální raphe (T), fovea centralis (F), papilomakulární svazek – nejvyšší koncentrace vláken RNFL (P)

Zdroj: Levin LA, Adler's Physiology Adler's Physiology of the Eye and Ocular Disease: [103]

Největší množství vláken je v oblasti fovey, kde je i nejvyšší koncentrace fotoreceptorů a gangliových buněk. Směrem k terči zrakového nervu se vlákna před vstupem do optického nervu postupně koncentrují do dvou svazků shora a sdola a utvářejí tak strukturu podobnou tvaru přesýpacích hodin. Následně se oba svazky spojí a vytvoří zrakový nerv, který po odstupu z oka ještě navíc získává myelinovou pochvu.

Přístroj GDx VCC měří tloušťku RNFL kolem celého terče zrakového nervu a měřením stanovuje průměrnou tloušťku RNFL v definované peripapilární oblasti v takzvaných standardních parametrech:

- průměrnou tloušťku RNFL cirkulárně kolem celé papily optického nervu - TSNIT average (zkratka z angl. *Temporal-Superior-Nasal-Inferior-Temporal average*),
- průměrnou tloušťku RNFL v horním svazku - Superior average a
- průměrnou tloušťkou RNFL v dolním svazku - Inferior average.

Matematické výstupy z přístroje jsou upraveny do uživatelsky příjemného grafického prostředí, kde kromě absolutních naměřených hodnot, podávají i

orientační informace v grafu a barevné škále vzhledem k věkové normě. Přístroj je totiž schopen porovnat naměřené výsledky s vnitřní normativní databází, která zohledňuje odlišnosti věku, pohlaví a rasy u daného pacienta. Tyto odlišnosti bere přístroj v úvahu, a na základě korekce naměřených hodnot stanoví rovněž index NFI (z angl. *nerve fiber index*), což je index který nabývá hodnot 1-99 a vyjadřuje riziko poškození zrakového nervu u daného pacienta. Tento index je nepřímo úměrný tloušťce RNFL a narůstá s jejím úbytkem v závislosti na ostatních faktorech. Přístroj je primárně určen k diagnostice glaukomu, kde dosahuje hodnot senzitivity 86% a specifity 82%, ale je dobře využitelný i pro diagnostiku ostatních onemocnění, kde dochází k úbytku nervových vláken sítnice, a vyhovuje tedy i našim požadavkům na detekci tloušťky RNFL u HIV pozitivních pacientů. [104]

### **3.2.4 Zkoumaná kritéria**

U pacientů zařazených do souboru byla po kompletním oftalmologickém vyšetření změřena na přístroji GDx VCC tloušťka nervových vláken na sítnici v oblasti terče zrakového nervu. Na základě lékařských záznamů AIDS centra Infekční kliniky Nemocnice Na Bulovce v Praze, jsme získali informace o délce trvání infekce, počtu CD4 + T lymfocytů během léčby a typu užívané terapie během onemocnění pacienta.

Přestože má přístroj GDx svou vnitřní normativní databázi zohledňující věk, porovnali jsme stanovenou tloušťku nervových vláken s tloušťkou RNFL ve skupinách zdravé populace s obdobnou epidemiologickou charakteristikou uváděných v odborné literatuře, s předpokladem možného úbytku RNFL u HIV pozitivních pacientů, který udávaly některé předchozí studie. [90-92] Srovnání parametrů bylo prováděno až po adjustaci možných věkových rozdílů mezi jednotlivými skupinami. Pro tuto adjustaci byly použity regresní závislosti parametrů RNFL na věku, které byly publikované výrobcem přístroje GDx VCC (Carl Zeiss Meditec) v kapitole o normativní databázi, podle které dochází vlivem stárnutí k průměrnému úbytku jednotlivých parametrů RNFL TSNIT average, Superior average, Inferior average a TSNIT SD o 0,053  $\mu\text{m}$ , 0,1164  $\mu\text{m}$ , 0,1047  $\mu\text{m}$ , respektive 0,0977  $\mu\text{m}$  za jeden rok. [105]

Délka trvání infekce u pacientů zařazených do souboru byla zjištěna z dokumentace tak, že zařazení jedinci v naprosté většině případů pravidelně docházeli na testování HIV v důsledku rizikového chování a dobu nákazy se nám tak u všech zařazených pacientů podařilo stanovit s přesností 3 - 6 měsíců.

Imunitní profil pacientů jsme stanovili na základě záznamů počtu CD4 + T lymfocytů z dokumentace. Ze zkušenosti infektologů vyplývá, že kromě klinických známek, celkový stav imunity HIV pozitivních pacientů nejlépe predikuje nejnižší hodnota CD4 + T lymfocytů dosažená v průběhu historie pacienta, takzvaná nadir CD4 + T lymfocytů (nadir CD4). Platí, že hodnota nadir CD4 < 100 /  $\mu$ l charakterizuje pacienta s celkově velmi pokročilým onemocněním. Hodnoty CD4 + T lymfocytů navíc negativně korelují s aktivitou HIV infekce, charakterizované takzvanou virovou náloží. [106] Virová nálož je definována jako množství virové RNA v jednotce periferní krve a odpovídá míře replikace viru v organismu. V naší studii jsme jednak porovnávali korelace parametrů RNFL kontinuálně s hodnotami nadir CD4 + T lymfocytů, korelace parametrů RNFL s hodnotami nadir CD4 + T lymfocytů u pacientů rozdělených do dvou skupin podle počtu nadir CD4 < 100 buněk /  $\mu$ l a nadir CD4 > 100 buněk /  $\mu$ l, a porovnávali jsme i průměrné hodnoty parametrů RNFL obou dvou těchto skupin navzájem.

Z dokumentace jsme rovněž získali přesné informace o tom, zda byl pacient léčen antiretrovirovými léky a kterými konkrétně. Na základě toho jsme mohli porovnat možné změny RNFL u pacientů léčených jednotlivými skupinami antiretrovirotik. Vzhledem k tomu, že léky didanosin, stavudin a zalcitabin, v širším pojetí i zidovudin a jeho dvě kombinace s lamivudinem (Combivir®) nebo s lamivudinem a abacavirem (Trizivir®), ze skupiny nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI) jsou považovány za neurotoxické, respektive potenciálně neurotoxické, zaměřili jsme se především na možné změny RNFL u části pacientů léčených těmito léky. Na základě tohoto předpokladu jsme testovali možné změny RNFL parametrů ve skupinách pacientů, kteří užívali některý ze tří neurotoxických (didanosin, stavudin a zalcitabin), respektive širší skupiny šesti neurotoxických a potenciálně neurotoxických léků (didanosin, stavudin, zalcitabin, zidovudin, Combivir® a Trizivir®). Záznam o léčbě určitým lékem byl považován za relevantní a zaznamenán pouze tehdy, pokud léčba takovým lékem trvala alespoň 3 měsíce, tedy po dobu minimální, za kterou se podle literatury může projevit jejich léková toxicita. [8]

### 3.2.5 Etické aspekty

Všichni pacienti v souboru souhlasili se zařazením do této studie a byli poučeni o postupu a cílech studie. Všechna vyšetření proběhla s ohledem na přání a intimitu pacientů podle postupů lege artis a žádné vyšetření žádným způsobem neovlivnilo průběh onemocnění HIV ani jiným způsobem nepoškodilo pacienty. Provedení této studie bylo schváleno etickou komisí Nemocnice Na Bulovce. Případné odmítnutí podpisu informovaného souhlasu nemělo žádný vliv na sledování a léčbu pacienta.

### 3.2.6 Statistické metody

Spojitě proměnné jsou charakterizované průměry a směrodatnými odchylkami, jako mírou polohy a variability. Kategorické veličiny jsou prezentovány ve formě absolutních a relativních četností, tedy procent. K výpočtu korelací proměnných veličin byl použit smíšený model lineární regrese analýzy s náhodným absolutním členem pro každého jedince a odhad parametrů modelu byl založen na aproximaci hodnot zobecněnou metodou nejmenších čtverců. Tento přístup regrese bere v úvahu všechny námi zvažované proměnné veličiny zároveň, jejich vzájemné korelace a rovněž i vzájemné korelace mezi pravým a levým okem u každého daného jedince. Oči nebyly rozlišovány na pravé a levé, ale byl použit indikátor osoby tak, aby mohla být využita informace, které oči jsou sjednoceny osobou pacienta. Závislost parametrů byla testována na hodnotách tzv. vysvětlujících proměnných, a to zejména na délce trvání infekce, věku při vyšetření očí, počtu nadir CD4 + T lymfocytů a antiretrovirové léčbě. Míra závislosti mezi dvěma spojitými veličinami byla posuzována pomocí Spearmanova pořadového korelačního koeficientu, zatímco vztah mezi spojitou a binární veličinou byl charakterizován biseriálním korelačním koeficientem. Pro porovnání průměrných hodnot tloušťky RNFL v naší studii s dříve publikovanými údaji tloušťky RNFL u normálních jedinců byl použit Studentův dvouvýběrový t-test. Všechny statistické testy byly provedeny jako oboustranné a na hladině významnosti 0,05. Ke zpracování dat byl použit statistický software Stata 9.2 (Stata Corp LP, College Station, TX, USA).



## 3.3 Výsledky

### 3.3.1 Epidemiologická charakteristika souboru

Z celkového počtu padesáti zařazených pacientů bělošské populace, bylo analyzováno 48 osob a 93 očí. Dva pacienti byli z analýzy vyloučeni z důvodu nevyhovění vstupním kritériím. V jednom případě se jednalo o pacienta s nejasnou délkou HIV infekce a v druhém o pacienta s pokročilou HIV retinopatií. U třech pacientů jsme hodnotili data pacienta pouze z jednoho oka, když druhé oko rovněž nevyhovovalo našim vstupním kritériím. V prvním případě se jednalo o pacienta s anamnézou proběhlé jednostranné CMV retinitidy s jizvami sítnice, v druhém případě se jednalo o oko po operaci šedého zákalu, a u třetího pacienta bylo jedno oko amblyopické.

Náš soubor tvořilo 43 mužů a 5 žen průměrného věku  $39,5 \pm 10,7$  roků, s minimem 22,8 a maximem 68,7 roků. Průměrná délka trvání infekce u našich pacientů byla  $8,8 \pm 6,6$  roků, s minimem 0,2 a maximem 23,4 roků, jak uvádí tabulka č. 9. Průměrný věk v době stanovení diagnózy infekce HIV v naší skupině byl  $30,7 \pm 8,7$  roků, s minimem 18,3 a maximem 52,5 roků.

Tabulka č. 9: Charakteristika souboru

proměnná	N	mean	sd	min	max
věk při vyšetření	48.0	39.5	10.7	22.8	68.7

proměnná	N	mean	sd	min	max
délka trvání infekce	48.0	8.8	6.6	0.2	23.4

proměnná	N	mean	sd	min	max
věk při nákaze	48.0	30.7	8.7	18.3	52.5

U deseti pacientů byl v průběhu sledování zaznamenán pokles hodnot nadir CD4 + T lymfocytů pod hladinu 100 buněk /  $\mu\text{l}$  a u 38 pacientů byly nejnižší hodnoty nadir CD4 + T lymfocytů vyšší než 100 buněk /  $\mu\text{l}$ . Průměrná hodnota

nadir CD4 + T lymfocytů v našem souboru byla  $240,9 \pm 149,2$  buněk /  $\mu\text{l}$ , s minimem 10 a maximem 554 buněk /  $\mu\text{l}$ .

Devět pacientů neužívalo nikdy žádnou antiretrovirovou terapii, u 16 pacientů byla zaznamenána v průběhu sledování léčba antiviroty včetně užívání některého ze skupiny tří neurotoxických nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (didanosin, stavudin, zalcitabin), a u 23 pacientů byla zaznamenána léčba některým z potenciálně neurotoxických nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (zidovudin, Combivir®, Trizivir®).

### **3.3.2 Přehled naměřených hodnot parametrů RNFL v souboru a jejich srovnání s hodnotami zdravé populace**

Zjištěné hodnoty parametrů RNFL byly v našem souboru pro TSNIT average, pro Superior average a pro Inferior average,  $57,65 \pm 6,18$   $\mu\text{m}$ ,  $69,38 \pm 8,34$   $\mu\text{m}$ , respektive  $68,89 \pm 9,50$   $\mu\text{m}$ .

Porovnání údajů průměrných hodnot parametrů tloušťky RNFL v našem souboru s dříve publikovanými údaji u zdravých jedinců uvádí tabulka č. 10. Vzhledem k tomu, že jsou mezi studii mírné, ale statisticky významné, rozdílly ve věkové skladbě pacientů, prováděli jsme toto porovnání jednotlivých parametrů RNFL až po důsledné adjustaci těchto věkových rozdílů, jak je popsáno v kapitole o metodice. Vypočítané p-hodnoty charakterizující rozdílly ve sledovaných parametrech po odfiltrování rozdílů ve věku uvádí tabulka č. 11. Z uvedeného je zřejmé, že ve studii Reus nejsou mezi naměřenými hodnotami parametrů RNFL statisticky významné rozdílly (TSNIT average, Superior average), nebo jsou hodnoty parametrů RNFL v porovnání s naší studií statisticky významně nižší (Inferior average). Podobně jsou i ve studii Da Pozzo ve srovnání s naším souborem hodnoty parametrů RNFL srovnatelné (Superior average) nebo statisticky významně nižší (TSNIT average, Inferior average). Studie Liu má průměrné hodnoty srovnatelné s našimi, respektive mezi studii nejsou statisticky významné rozdílly v průměrné tloušťce RNFL, a ve studii Kook jsou některé hodnoty srovnatelné (Inferior average) a jiné významně vyšší (TSNIT average, Superior average) oproti našemu zjištění. Studie Salvat, která

je věkovou skladbou a počtem pacientů s naší studií nejlépe srovnatelná, uvádí zcela srovnatelné parametry (TSNIT average, Superior average) nebo signifikantně nižší parametr (Inferior average) ve srovnání s naším souborem.

Celkově lze říci, že s výjimkou studie Kook mají všechny porovnávané soubory ve srovnání s naším souborem vždy srovnatelné nebo nižší hodnoty průměrných parametrů RNFL a předpoklad menší tloušťky RNFL u HIV pozitivních pacientů oproti zdravé populaci se tak v naší studii nepotvrdil.

Tabulka č. 10: Porovnání tloušťky RNFL našeho souboru se soubory zdravých jedinců

	počet očí (n)	věk ± SD (roky)	TSNIT average (μm)	Superior average (μm)	Inferior average (μm)	TSNIT SD (μm)
<b>Reus et al. 2004</b>	73	59 ± 11	54.8 ± 5.8	66.7 ± 7.3	61.5 ± 9.0	20.0 ± 3.7
<b>Kook et al 2005</b>	66	52 ± 12	59.45 ± 5.20	72.52 ± 8.56	69.58 ± 8.47	23.53 ± 5.30
<b>Liu et al. 2006</b>	123	48 ± 17	56.87 ± 4.53	70.30 ± 6.76	67.35 ± 6.77	23.68 ± 4.61
<b>DaPozzo et al. 2006</b>	324	56 ± 14	54.5 ± 3.5	66.4 ± 5.8	64.1 ± 5.9	not published
<b>Salvetat et al. 2010</b>	96	47 ± 20	56.2 ± 5.1	67.3 ± 7.4	62.3 ± 7.9	21.5 ± 4.1
<b>Kozner et al. 2010</b>	<b>93</b>	<b>40 ± 11</b>	<b>57.65 ± 6.18</b>	<b>69.38 ± 8.34</b>	<b>68.89 ± 9.50</b>	<b>24.34 ± 4.34</b>

*Zdroj: přehled zpracován na základě výsledků měření RNFL zdravé populace ze studií Reus et al. 2004, Kook et al. 2005, Liu et al. 2006, Da Pozzo et al. 2006 a Salvetat et al. 2010 [107-111]*

Tabulka č. 11: **Statistická významnost (p-hodnoty) srovnání RNFL našeho souboru se soubory zdravých jedinců**

Autor	Průměrný věk (roky)	TSNIT Average*	Superior Average*	Inferior Average*	TSNIT SD*
Reus et al. 2004	<0,001	0,080	0,788	0,004	0,046
Kook et al. 2005	<0,001	0,020	0,017	0,298	0,790
Liu et al. 2006	<0,001	0,665	0,210	0,627	0,915
DaPozzo et al. 2006	<0,001	<0,001	0,326	0,005	----
Salvetat et al. 2010	0,003	0,243	0,435	<0,001	0,067

\* porovnání adjustováno vůči rozdílům v průměrném věku mezi studii

### 3.3.3 Přehled výsledků vlivu délky trvání infekce HIV na tloušťku RNFL

Z pohledu vlivu délky trvání infekce na tloušťku RNFL jsme zaznamenali statisticky významnou korelaci mezi hodnotami parametrů RNFL a délkou trvání HIV infekce. Ve všech zkoumaných parametrech charakterizujících tloušťku RNFL, tedy TSNIT average, Superior average a Inferior average, docházelo k jejich poklesu v závislosti na narůstající délce trvání HIV infekce. Tyto změny byly v rámci smíšeného modelu lineární regresní analýzy s náhodným absolutním členem striktně očištěny vůči vlivu věku a jejich statistická hladina významnosti byla určena pro TSNIT average  $p = 0,022$ , s koeficientem determinace  $r^2 = 0,116$  a z toho vyplývajícím korelačním koeficientem  $r = 0,341$ . Naopak věk pacientů byl touto analýzou jako dominantní prediktor vzhledem k vysoké hodnotě  $p = 0,357$  vyloučen. Závislost změn TSNIT average na délce trvání infekce a zároveň nezávislost na věku pacienta potvrzuje následující výstup ze statistické analýzy v tabulce č. 12 a znázorňuje následující graf č. 4.







věku pacienta, konzistentně rostl se statistickou hladinou významnosti  $p = 0,001$ , jak dokládá následující výstup z regresní analýzy v tabulce č. 15. Vzhledem k tomu, že index NFI je z definice nepřímo úměrný tloušťce RNFL, je tato jeho inverzní povaha vůči poklesu parametrů RNFL v souladu s námi zjištěným ztenčováním RNFL v průběhu trvání HIV infekce.

Tabulka č. 15: Výstup Poissonovy regrese vlivu delky infekce na NFI

```
. xi: xtpoisson nfi delkainf veknak, re i(cprot)

Random-effects Poisson regression      Number of obs      =      93
Group variable (i): cprot              Number of groups   =      48

Random effects u_i ~ Gamma              Obs per group: min =      1
                                           avg =      1.9
                                           max =      2

Log likelihood = -294.64178              Wald chi2(2)       =      12.86
                                           Prob > chi2        =      0.0016
```

nfi	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
delkainf	.0337	.0099756	3.38	<b>0.001</b>	.0141482	.0532519
veknak	-.0099126	.008084	-1.23	0.220	-.0257569	.0059318
_cons	2.664682	.2711883	9.83	0.000	2.133162	3.196201
/lnalpha	-1.708154	.2594686			-2.216703	-1.199605
alpha	.1812	.0470157			.1089678	.3013132

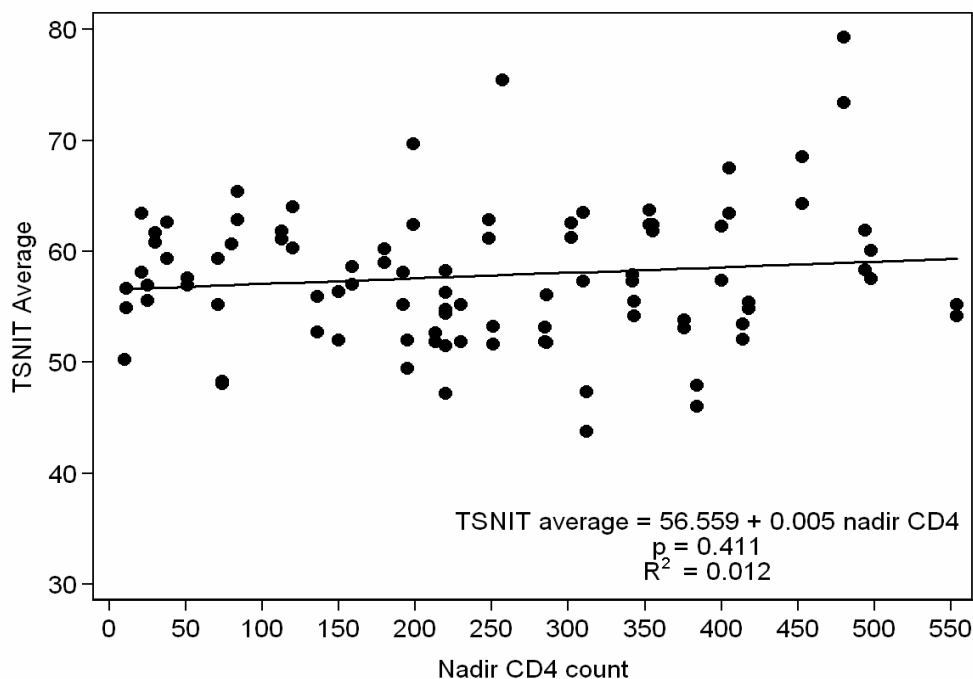
```
Likelihood-ratio test of alpha=0: chibar2(01) = 112.97 Prob>=chibar2 = 0.000
```

### 3.3.4 Přehled výsledků vlivu imunitního profilu na tloušťku RNFL

Jako další jsme testovali závislost tloušťky RNFL na imunitním profilu pacientů, definovaném počtem nadir CD4 + T lymfocytů. Lineární regresní analýza neprokázala žádnou statisticky významnou vazbu jednotlivých parametrů tloušťky RNFL, tj. TSNIT average, Superior average a Inferior average, s hodnotami nadir CD4 + T lymfocytů. Směrnice regresní přímky nebyla ani v jednom případě statisticky významně odlišná od nuly a dosažené hladiny významnosti pro jednotlivé parametry byly  $p = 0,411$ ,  $p = 0,399$  a  $p = 0,240$ . Nevýznamný trend vlivu počtu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average demonstruje následující graf č. 7.

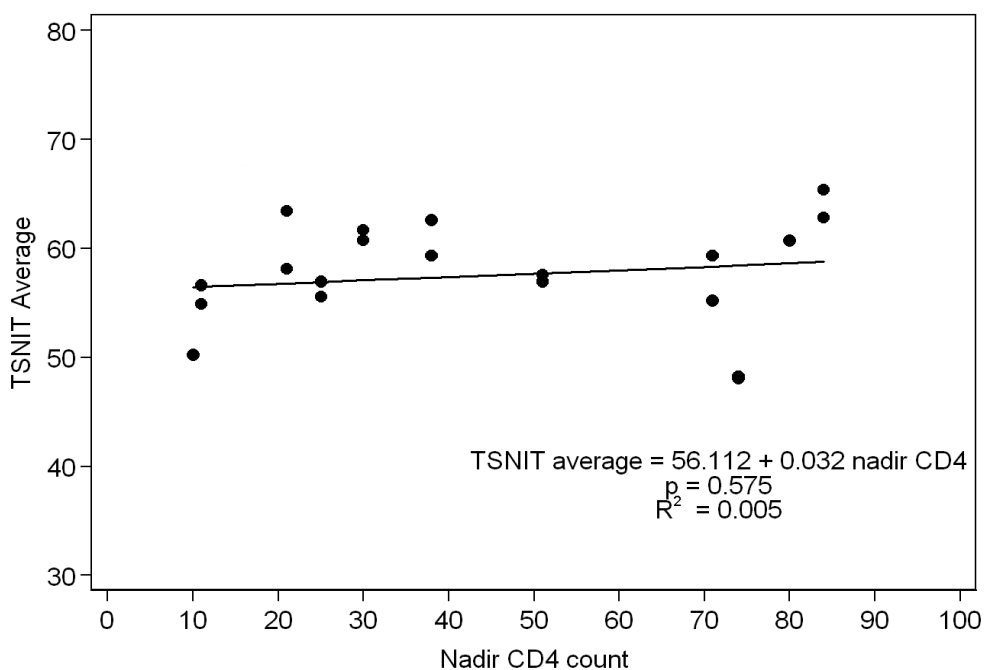


Graf č. 7: Graf regresní analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average (v mikrometrech)

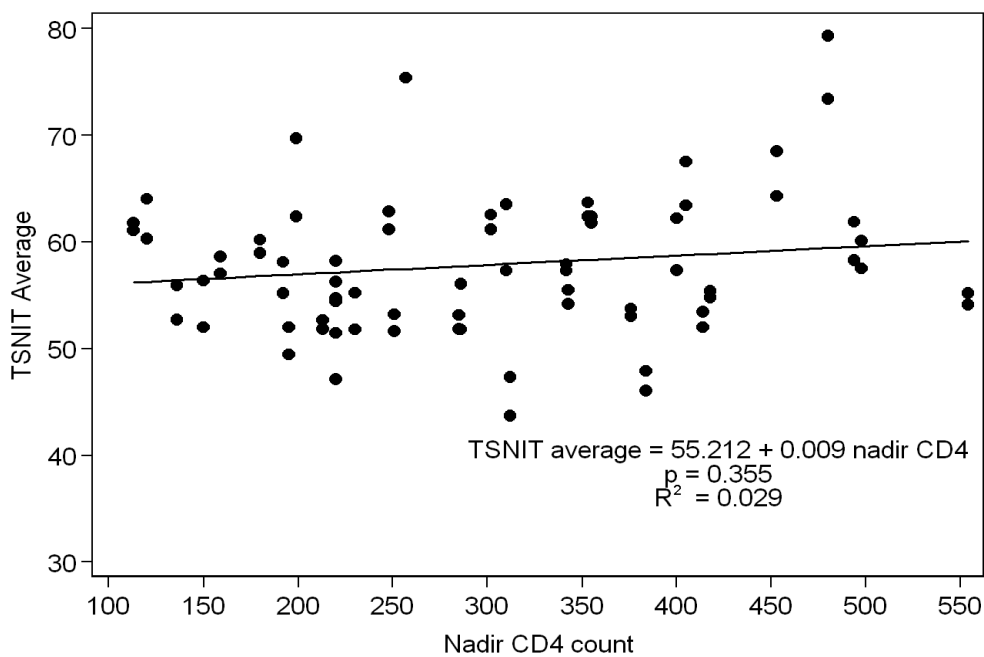


Podobně jsme nezaznamenali na požadované hladině významnosti ani korelace mezi jednotlivými parametry tloušťky RNFL a CD4+ T-lymfocyty po rozdělení pacientů do dvou skupin podle počtu nadir CD4 + T lymfocytů a posouzení každé skupiny zvlášť. Ve skupině s hodnotami nadir pod 100 buněk /  $\mu\text{l}$ , pro TSNIT average  $r^2 = 0,005$ ,  $r = 0,071$ ,  $p = 0,575$ , ani ve skupině s hodnotami nadir nad 100 buněk /  $\mu\text{l}$ , pro TSNIT average  $r^2 = 0,029$ ,  $r = 0,170$ ,  $p = 0,355$ , není zřejmá signifikantní závislost, jak demonstruje graf č. 8 a 9 na následující straně. Podobně nebyly v žádné skupině zaznamenány signifikantní korelace ani pro ostatní zkoumané parametry RNFL, tj. Superior average a Inferior average. Pro nadir pod 100 buněk /  $\mu\text{l}$  byla  $p = 0,530$  respektive  $p = 0,426$  a pro nadir nad 100 buněk /  $\mu\text{l}$   $p = 0,288$  respektive  $p = 0,635$ .

Graf č. 8: Graf regresní analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů ve na TSNIT average (v mikrometrech) ve skupině pod 100 buněk/ul



Graf č. 9: Graf regresní analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average (v mikrometrech) ve skupině nad 100 buněk/ul



Ani při vzájemném porovnání průměrných hodnot parametrů tloušťky RNFL - TSNIT average, Superior average a Inferior average mezi oběma výše specifikovanými skupinami pacientů s nižšími a vyššími hodnotami nadir CD4+ T-lymfocytů nebyly zjištěny mezi jednotlivými parametry RNFL statisticky významné rozdíly. Příslušné p-hodnoty pro jednotlivé parametry, jak uvádí následující tabulka č. 16, jsou  $p = 0,885$ ,  $p = 0,861$  a  $p = 0,648$ .

Tabulka č. 16: Výstup statistické analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average, Superior average a Inferior average

Summary for variables: tsnit  
by categories of: nadir100

nadir100	N	mean	sd	min	max
>=100	73.00	57.63	6.54	43.73	79.30
<100	20.00	57.72	4.81	48.08	65.40
Total	93.00	57.65	6.18	43.73	79.30

**p=0.885**

Summary for variables: sup  
by categories of: nadir100

nadir100	N	mean	sd	min	max
>=100	73.00	69.38	8.34	49.44	90.30
<100	20.00	69.39	8.53	50.50	84.60
Total	93.00	69.38	8.34	49.44	90.30

**p=0.861**

Summary for variables: inf  
by categories of: nadir100

nadir100	N	mean	sd	min	max
>=100	73.00	69.03	9.93	43.81	100.00
<100	20.00	68.35	7.98	52.10	81.60
Total	93.00	68.89	9.50	43.81	100.00

**p=0.648**

Z těchto analýz vyplývá, že v naší studii se počty nadir CD4 + T lymfocytů nejeví jako statisticky významný prediktor parametrů charakterizujících tloušťku RNFL.

### 3.3.5 Přehled výsledků vlivu antiretrovirové terapie na tloušťku RNFL

Vliv užívání neurotoxických antiretrovirových léků u HIV pozitivních pacientů je v silné pozitivní korelaci s délkou trvání infekce, jak naznačuje tabulka č. 17. To potvrzují i silné biseriální korelační koeficienty mezi délkou trvání infekce a indikátorem užívání takových antivirových léků (ano / ne), které jsou v našem souboru pro užití některého z užší skupiny tří prokazatelně neurotoxických léků  $r = 0,74$  a  $p = 0,001$ , a pro užití některého ze širší skupiny šesti neurotoxických a potenciálně neurotoxických antivirových léků  $r = 0,617$  a  $p = 0,001$ .

Tabulka č. 17: Souvislost mezi užíváním neurotoxických léků a trváním infekce

Trvání infekce v letech	Počet užívaných neurotoxických léků				Celkem pacientů
	0	1	2	3	
0- 2.99	12	0	0	0	12
3- 6.99	10	0	0	0	10
7-13.99	8	5	0	0	13
14+	2	4	6	1	13
Celkem	32	9	6	1	48

Po zahrnutí všech proměnných faktorů, tedy věku, délky trvání infekce a léčby neurotoxickými léky, do smíšeného modelu lineární regresní analýzy však vychází jako dominantní prediktor poklesu tloušťky RNFL délka trvání infekce. Naproti tomu užívání antiretrovirových léků neprokázalo statisticky významnou roli, stejně jako věk pacientů, jak potvrzuje výstup regresní analýzy v tabulce č. 18 a 19 a ilustrují následující dva grafy č. 10 a 11. Pro užití některého ze 3 neurotoxických léků ze skupiny NRTI (didanosin, stavudin a zalcitabin) tak není korelace  $r = 0.371$  ( $r^2 = 0,1373$ ) na hladině statistické významnosti,  $p = 0,367$ , a u pacientů léčených některým ze širší skupiny neurotoxických a potenciálně neurotoxických léků (didanosin, stavudin, zalcitabin, zidovudin, Combivir® a Trizivir®), platí obdobný vztah  $r = 0.396$  ( $r^2 = 0,1570$ ),  $p = 0,301$ .





## 3.4 Diskuze

### 3.4.1 Hodnocení naměřených hodnot RNFL v našem souboru a jejich srovnání s hodnotami zdravé populace

Na rozdíl od některých předchozích studií HIV pozitivních pacientů, byly naměřené hodnoty parametrů tloušťky RNFL v našem souboru v mezích normálních hodnot. Na toto téma však bylo publikováno pouze několik málo studií, které byly navíc ve svých závěrech dosti protichůdné. [90-92, 97] V pilotní studii publikované kolektivem autorů Thierfelder et al. v roce 1995, která hodnotila RNFL u 7 HIV pozitivních pacientů pomocí první generace přístroje GDx, nebyly prokázány žádné statisticky významné změny v tloušťce RNFL ve srovnání se zdravými pacienty. [97] V následující studii publikované kolektivem autorů Plummer et al. v roce 2001, která hodnotila RNFL u 38 pacientů pomocí přístroje HRT (z angl. *Heidelberg Retinal Tomograph*), byl nalezen signifikantní úbytek RNFL u HIV pozitivních pacientů ve srovnání se zdravou populací. [90] Závěry této studie úbytku RNFL však neoznačily žádné faktory, které by mohly tento úbytek způsobit. Následující studie byla provedená v roce 2005 týmem Kozaka et al. a závěry této studie provedené na souboru 65 HIV pozitivních pacientů přístrojem OCT (z angl. *Optical Coherence Tomography*) prokázaly, že k úbytku RNFL u HIV pozitivních pacientů dochází, nicméně pouze u těch pacientů, jejichž hodnoty nadir CD4 + T lymfocytů se pohybovaly pod hodnotou 100 buněk /  $\mu$ l, u ostatních pacientů s lepším imunitním profilem statisticky významné změny RNFL prokázány nebyly. [91] Zatím poslední publikovaná studie v řadě je od Besady et al.. Tento kolektiv autorů provedl měření na souboru 13 HIV pozitivních pacientů pomocí přístrojů HRT a GDx VCC a prokázal, že v jejich souboru HIV pozitivních pacientů bez jakékoli jiné retinální patologie léčených antiretrovirovou terapií byla nalezena signifikantní redukce RNFL oproti zdravé populaci, a to jak na přístroji HRT, tak i na GDx VCC. Nebyl však nalezen žádný příčinný faktor takového úbytku RNFL a ani zvažované korelace s hodnotami CD4 + T lymfocytů, virovou náloží, antiretrovirovou terapií či délkou trvání infekce v této studii nebyly signifikantní. [92].

Rozdíly ve výsledcích jednotlivých studií mohou být způsobeny větším množstvím faktorů. Zdroje možných zkreslení mohou být v jednotlivých případech dány například odlišnou definicí či nedodržením vstupních kritérií. Takovým příkladem by mohlo být například náhodné zařazení pacientů s přidruženým či nerozpoznaným postižením RNFL jiné etiologie do zkoumaného souboru. Tito pacienti by však měli mít hodnoty parametrů RNFL oproti normě nižší. Protože hodnoty parametrů tloušťky RNFL v našem souboru jsou téměř vždy vyšší než v ostatních studiích, zdá se takové zkreslení u naší studie méně pravděpodobné.

Rozporuplnost výsledků měření RNFL mezi předchozími studii může být způsobena i odlišnými typy použitých metod pro měření RNFL. Ačkoliv jsou všechny užití metody GDx, HRT, OCT, GDx VCC, určené ke stejnému účelu a v zásadě srovnatelné, měření tloušťky RNFL probíhají na odlišných fyzikálních principech, a jednotlivé metody tak mají lehce rozdílnou senzitivitu, specifitu i odchylku měření. Výhodou polarimetrického měření RNFL přístrojem GDx je schopnost zahrnout do změřené tloušťky RNFL i její funkční poruchy a měřit tak tzv. integritu RNFL. [112] Tento princip vychází z odlišného charakteru dvojlomu na zdravých a nemocných axonech v rámci časných patologických změn na úrovni mikrotubulů a neurofilament. Přístroj GDx takto dokáže odhalit i počínající patologické změny na úrovni mikroorganel, které se při prostém metrickém měření tloušťky RNFL jinými přístroji neodhalí. [113, 114] Přes větší množství publikovaných srovnávacích studií však nelze jednoznačně určit, která metoda je u které skupiny pacientů v současnosti pro měření RNFL nej přesnější a nejvýhodnější. [115-118] Přestože v ideálním případě by musela měření ve všech studiích probíhat na stejném typu přístroje, držíme se v interpretaci předpokladu, že vyšetření na jednotlivých přístrojích jsou ve výsledcích srovnatelná. [119] Exaktní srovnávání výsledků naměřených hodnot tloušťky RNFL u HIV pozitivních pacientů napříč všemi studii by bylo možné pouze za předpokladu měření na přístrojích založených na stejném fyzikálním principu.

V našem případě měření RNFL na principu laserové polarimetrie by přicházelo v úvahu srovnání hodnot s výsledky Thierfeldera a Besady, které jsou však ve svých závěrech zcela protichůdné [92, 97] a musí být proto v jejich případě přítomen i nějaký jiný faktor, který výsledná měření ovlivňuje. Obě tyto studie byly prováděny na příliš malých souborech pacientů, 7 respektive 13



pacientů, což může být zdrojem nepřesné statistické analýzy. Velikost našeho souboru čtyřiceti osmi HIV pozitivních pacientů je druhá největší ze všech dosud publikovaných prací v oblasti měření RNFL u HIV pozitivních pacientů a naměřené hodnoty by tak měly mít vyšší výpovědní hodnotu ve srovnání se studii na menších souborech. Navíc, Thierfelderova studie z roku 1995 byla prováděna pomocí první generace přístroje GDx, jehož menší přesnost měření RNFL byla po zavedení GDx VCC opakovaně prokázána. [120, 121]

Pro porovnání hodnot parametrů tloušťky RNFL našeho souboru s normální populací jsme využili hodnoty parametrů RNFL z předešlých analýz u zdravých jedinců uvedených v literatuře. [107-111] Vybrali jsme tak pět souborů s nejbližší epidemiologickou charakteristikou a tyto jsme po odfiltrování věkových rozdílů podrobili srovnávací analýze s naší skupinou Studentovým t - testem. Ve všech srovnávaných studiích, s výjimkou studie Kook [108], tedy ve studii Reus [107], Liu [109], Da Pozzo [110] i Salvetat [111], jsou hodnoty parametrů RNFL buď zcela srovnatelné, nebo statisticky významně nižší ve srovnání s naší studií, jak ilustruje následující tabulka č. 20.

Tabulka č. 20: **Porovnání hodnot parametrů tloušťky RNFL našeho souboru se soubory zdravých jedinců z literatury**

Author	TSNIT Average	Superior Average	Inferior Average
Reus et al. 2004	=	=	-
Kook et al. 2005	+	+	=
Liu et al. 2006	=	=	=
Da Pozzo et al. 2006	-	=	-
Salvetat et al. 2010	=	=	-

=..srovnatelné, staticky nevýznamné rozdíly průměrných hodnot parametrů RNFL

+.statisticky významně vyšší průměrné hodnoty parametrů RNFL

-..statisticky významně nižší průměrné hodnoty parametrů RNFL

Nález statisticky významně vyšších hodnot některých parametrů RNFL v čínské studii Kook [108] by mohl být dán rozdílem tloušťky RNFL v rámci odlišností u jednotlivých ras. U asiátů a hispánců byly totiž opakovaně prokázány

vyšší hodnoty RNFL oproti populaci bělošské. [122-125] Při srovnání výsledků naší studie se studii měřenými pouze na bělošských populacích, tedy se studii Reus [107], Da Pozzo [110] a Salvetat [111], jsou hodnoty parametrů RNFL vždy srovnatelné nebo nižší v porovnání s naším souborem. A právě poslední jmenovaná studie Salvetat [111] je s naší studií velmi dobře srovnatelná, jelikož je provedena na stejném typu přístroje GDx VCC a na srovnatelném počtu pacientů podobné věkové skladby. Předpoklad nižší tloušťky RNFL u HIV pozitivních pacientů oproti normální populaci, hypotetizovaný v některých dříve publikovaných studiích - Plummer [90], Kozak [91] a Besada [92], se tak v našem případě nepotvrdil.

### **3.4.2 Hodnocení vlivu délky trvání HIV infekce na RNFL**

Jedním z předpokládaných faktorů, který by mohl ovlivňovat RNFL je i délka trvání infekce. V našem souboru jsme prokázali statisticky významnou negativní korelaci mezi délkou trvání HIV infekce a parametry tloušťky RNFL, a to se signifikancí pro TSNIT average, Superior average a Inferior average,  $p = 0.022$ ,  $p = 0,002$ , respektive  $p = 0,014$ . Tyto změny podle našich výpočtů souvisí s délkou trvání infekce, protože byly smíšeným modelem lineární regresní analýzy očištěny od možných věkových změn v úbytku RNFL.

Mechanismus úbytku RNFL v závislosti na délce trvání HIV infekce je nejasný. Na základě dosud prokázaných změn při HIV infekci však můžeme spekulovat, že příčinou by mohly být například chronická mikrovaskulární ischemie [76, 78, 126], přímé poškození nervových vláken infikovanými makrofágy [26, 127], nebo zánětlivá reakce způsobená nepřímo jejich interleukiny. [128, 129] Přímá invaze viru do nervových buněk totiž prokázána nebyla. [8]

V důsledku patologických změn v krevním obraze, poruch ve vizkozitě a především cirkulaci imunokomplexů v periferní krvi, dochází u HIV pozitivních pacientů v těžkém imunodeficitu k chronické mikrovaskulární angiopatii, která probíhá na sítnici pod obrazem HIV retinopatie. [77] Při HIV retinopatii nalézáme četné hemoragie s vatovitými exsudáty, typické pro ischemické změny svrchních vrstev sítnice, tedy histologicky v oblasti RNFL. Vatovité exsudáty jsou nejspíše způsobeny ložiskovitým nahromaděním axoplasmy v axonech gangliových buněk

sítnice, tedy RNFL. [130, 131] Tato axoplazma se hromadí v důsledku poruchy jejího odtoku, který je zablokován ischemickým otokem v okolí mikroinfarktem postižené sítnice. [132] HIV retinopatie je v současnosti jedna z nejčastějších očních komplikací u HIV pozitivních pacientů po zavedení antiretrovirové léčby a vyskytuje se především u HIV pozitivních pacientů v hlubokém imunodeficitu s počty CD 4+ T lymfocytů pod 200 /  $\mu$ l, v ostatních případech se vyskytuje velmi vzácně. Přestože nález takové retinopatie nepředstavuje pro pacienta bezprostřední ohrožení zraku, tyto změny by v případě chronicity procesu mohly hypoteticky způsobovat multifokální ložiskové defekty sítnice a tedy i akcelarovat úbytek RNFL. [79, 93]

Taková příčina úbytku RNFL v závislosti na délce trvání infekce je sice jedna z možných, v našem případě se však zdá jako méně pravděpodobná. Důvod je ten, že pacienti v našem souboru mají v pravidelných intervalech, přibližně 2x za rok, sledovaný krevní obraz a při poklesu počtu CD 4+ T lymfocytů pod 200 /  $\mu$ l se provádí vyšetření očního pozadí a nasazuje ihned antiretrovirová léčba, která eventuelní mikrovaskulární ischemii, respektive klinický obraz HIV retinopatie, promptně zlepšuje. Pravděpodobnost, že by tak v souboru našich pacientů trvala dlouhodobě ischemie sítnicových vrstev je proto prakticky vyloučena.

Nabízí se tak další příčina úbytku RNFL s délkou trvání infekce, a to přítomnost chronické zánětlivé reakce v organismu způsobená infikovanými makrofágy. [26, 127] Tyto buňky mají totiž schopnost pronikat i do fyziologickými bariérami dobře chráněných orgánů jako jsou mozek či oko a mohly by po průchodu do oka mechanismem chronického zánětu způsobovat i poškození sítnicových struktur. Aktivace makrofágů, která je spojena se sekrecí velkého množství cytokininů a volných radikálů, může být způsobena buďto přímo replikací viru v infikované buňce, anebo nepřímo v důsledku chemotaxe a aktivace způsobené rozpadovými produkty napadených buněk nebo i virovými proteiny v postižené tkáni. Přítomnost některých prozánětlivých cytokininů jako jsou například TNF- $\alpha$  (z angl. *tumor necrosis factor alpha*) a IL-6 (z angl. *interleukin 6*), je podezřívána z možné neurotoxicity a je považována například za podklad HIV encefalopatie a demence, tedy poškození mozku vlivem infekce a imunitních činitelů bez jiné zřejmé příčiny, jejíž pravděpodobnost se zvyšuje s narůstající délkou trvání infekce spíše než stupněm postižení HIV. [133-138]

Takový mechanismus úbytku RNFL v závislosti na délce infekce se z našeho pohledu zdá být pravděpodobnější a hypotetizujeme tedy, že chronický subklinický zánět sítnice by mohl u našich pacientů způsobovat poškození gangliových buněk a úbytek RNFL.

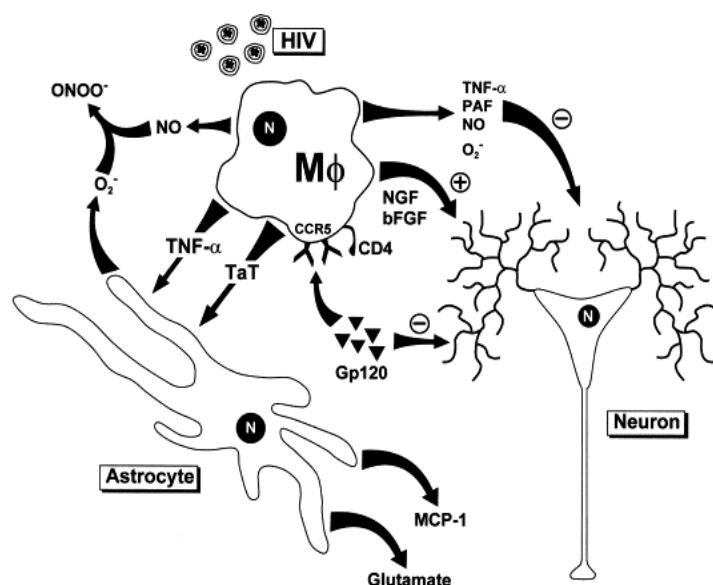
V patogenezi těchto imunopatologických pochodů by mohlo hrát roli narušení základních interakcí mezi CD 4+ T lymfocyty a makrofágy, kdy tyto patologicky změněné nebo chybějící lymfocyty, které mají za úkol mimo jiné inhibovat aktivitu makrofágů pomocí sekrece některých působků, jako například IL-4 a IL-10, nejsou schopny nadále tlumit jejich aktivitu. [128] To prokazují i studie provedené v posledních letech, které naznačují právě úbytek těchto inhibičních interleukinů a naopak přítomnost nadbytku potenciačních činitelů zánětlivé reakce jako jsou TNF- $\alpha$  a MCP 1 (z angl. *macrocystar chemoattractant protein 1*) ve tkáni CNS při klinickém nálezu HIV demence. [139]

Možný mechanismus úbytku RNFL u HIV pozitivních pacientů by mohl mít některé společné znaky právě s patofyziologií HIV demence, jejíž možné vysvětlení nabízí následující text a ilustruje obrázek č. 7 na následující straně. Infikované makrofágy, které pronikají hematoencefalickou bariérou, mohou spustit imunopatologickou kaskádu svou sekrecí prozánětlivých působků, jako jsou například proteiny TaT, aktivátory transkripce HIV, anebo TNF- $\alpha$ . [129, 140] Tyto působky spustí sekreci monocytárního chemoatrakčního proteinu - 1 (MCP-1) a glutamátu ovlivněnými astrocyty, což potencuje další makrofágy a buňky mikroglie k řetězové zánětlivé reakci. Zároveň, což je zvláště důležité, se všechny tyto aktivované buňky zapojené do zánětlivé kaskády podílejí na tvorbě superoxidových ( $OO^-$ ) a peroxynitritových ( $ONOO^-$ ) volných radikálů. Tento mohutný oxidační stres způsobený volnými radikály, společně s přímým toxickým účinkem cytokininů, především TNF- $\alpha$ , a toxicitou virových proteinů, jako je například Gp120, mohou být silným aktivátorem apoptózy neuronů. [127, 140-142].

V případě sítnice by se na podobných imunopatologických pochodech mohly podílet kromě makrofágů buňky retinálního pigmentového epitelu (RPE) a Müllerovy buňky, které zastupují v sítnici funkci neuroglie. Principem takových pochodů by mohla být podobně prokázána schopnost těchto buněk po aktivaci produkovat některé prozánětlivé působky jako je například MCP-1 a zároveň negativně ovlivňovat metabolismus glutamátu, antioxidantů a ATP v sítnici, což

může mít přímý vliv na poruchu funkce neuroreceptorů nebo gangliových buněk a vyvolat případně i jejich apoptózu a úbytek RNFL. [143, 144]

Obrázek č. 7: **Imunopatologické interakce mezi makrofágy, neurony a astrocyty v CNS při HIV demenci**



Legenda: HIV infikované makrofágy/mikroglie (Mo), proteinový aktivátor transkripce HIV (TaT) a tumor nekrosis faktor aplha (TNF- $\alpha$ ), monocytární chemoatrakční protein - 1 (MCP-1), superoxidový radikál ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), oxid dusnatý (NO), peroxynitritový radikál ( $\text{ONOO}^{\bullet-}$ ), povrchový fúzní protein HIV (Gp120)

Zdroj: volně podle Alireza Minagara et al., *The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis* [140]

V patofyziologii mechanismu námi zjištěného úbytku RNFL u HIV pozitivních pacientů v závislosti na délce trvání infekce, by se tedy mohlo jednat o patologicky potencovanou zánětlivou reakci způsobenou aktivovanými makrofágy a buňkami neuroglie sítnice, kterým chybí negativní tlumící zpětná vazba. Podobný mechanismus dysbalance v imunitních pochodech, tedy především narušená spolupráce mezi lymfocyty a makrofágy, se zvažuje nejen jako příčina HIV demence, ale i jako příčina Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy nemoci, roztroušené sklerozy nebo odhojovacích transplantačních reakcí. [25, 140] Výzkum v této oblasti je tedy úzce spjat s výzkumem neurodegenerativních a imunopatologických onemocnění. Patogeneze HIV demence podobně jako námi

zjištěného úbytku RNFL by tak do budoucna mohla sloužit jako jeden z modelových případů i pro výzkum těchto stavů.

### 3.4.3 Hodnocení vlivu počtu lymfocytů na pokles RNFL

Na rozdíl od studie Kozaka, která předpokládá jako příčinu úbytku RNFL špatný imunitní profil pacientů charakterizovaný nízkým počtem CD 4 + T lymfocytů [91], a který bývá z klinických zkušeností spojen s nálezem sítnicové mikrovaskulární angiopatie, výsledky naší studie takové závěry nepotvrzují. Jak již bylo zmíněno, jeden z možných předpokládaných mechanismů úbytku RNFL je právě mikroangiopatie sítnicových cév, označovaná klinicky v oftalmologii jako HIV retinopatie, asociovaná s hodnotami CD 4+ T lymfocytů v periferní krvi pod 200 buněk /  $\mu$ l. Na patofyziologii tohoto typu mikroangiopatie se pravděpodobně podílí precipitace malých imunokomplexů, složených z virových částic a komplementu C3a a C5a, v terminálních arteriolách. [77] Následkem toho dochází pravděpodobně ke zpuštění fibrinové kaskády a k uzávěrům drobných cév mikrotromby s následnou ischemií v odpovídající oblasti, projevující se na sítnici drobnými krváceními, otokem a vatovitými ložisky. [76] Jako méně pravděpodobná vzhledem k poruše imunity, ale přece jen možná, se zdá druhá hypotéza imunokomplexové vaskulitidy, která předpokládá zpuštění zánětlivé reakce třetího typu s následným poškozením stěny cév a ischemií tkáně po apozici imunokomplexů ve stěnách arteriol. [77, 78] Každopádně platí pro obě varianty, že mechanismus mikroangiopatie předpokládá vysoký počet virových částic v periferní krvi, který je vždy v negativní korelaci s počtem CD 4 + T lymfocytů. Průměrná hodnota nejnižších počtů CD4 + T lymfocytů během historie pacienta, nadir, však byla v našem souboru  $240,9 \pm 149,2$  buněk / ml, což vypovídá o dlouhodobě spíše lepším imunitním stavu našich nemocných a tedy nižších virových náložích v jejich periferní krvi. Tato indicie tak nepřímo naznačuje malou pravděpodobnost dlouhodobé mikrovaskulární angiopatie v souboru našich pacientů.

Takový závěr potvrzují i výsledky statistických analýz provedených na našem souboru, které nevykazují žádné kontinuální ani skupinové korelace mezi sledovanými parametry RNFL v závislosti na hodnotách nadir CD 4+ T lymfocytů,

které jsou považované za nejlepší prediktory dlouhodobého imunitního stavu HIV pozitivních pacientů a rovněž za prediktory HIV retinopatie. [77] Souvisí to pravděpodobně i s uvedeným faktem, že u většiny našich pacientů, kde klesnul počet CD 4+ T lymfocytů pod 200 /  $\mu$ l, byla bezprostředně nasazena antiretrovirová léčba a pacienti v našem souboru se tak v těžkém imunodeficitu ocitali ve výrazně menší míře a po kratší dobu, než je obvyklé. Vzhledem k našim výsledkům, uspokojivému imunitnímu profilu našich pacientů, respektive nízké virové náloži, a pravidelným očními kontrolám předpokládáme, že vliv špatného imunitního profilu, charakterizovaného nízkými počty CD 4+ T lymfocytů, který je dáván do souvislosti se sítnicovou mikrovaskulární angiopatií, v našem souboru významnou roli v úbytku RNFL nehrál.

### **3.4.4 Hodnocení vlivu antiretrovirové terapie na pokles RNFL**

V naší studii jsme se rovněž zabývali možným vlivem antiretrovirové terapie na poškození RNFL. Sledovali jsme proto možné změny parametrů RNFL u jedinců, kteří užívali prokazatelně neurotoxická (didanosin, stavudin a zalcitabin) a potenciálně neurotoxická (zidovudin, Combivir® a Trizivir®) antiretrovirovika ze skupiny nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI). [10, 145] Z výsledků vyplývá, že významný vliv užívání některého ze 3 neurotoxických léků (didanosin, stavudin a zalcitabin), respektive z širší skupiny neurotoxických a potenciálně neurotoxických léků (didanosin, stavudin, zalcitabin, zidovudin, Combivir® a Trizivir®), na úbytek RNFL v našem souboru prokázal nebyl.

Předpoklad pro úvahy možného vlivu léků na RNFL vycházel z poznatků negativního působení léků skupiny NRTI na periferní nervový systém. [146] A to především proto, že neurony periferního nervového systému se svými axony, tedy periferními nervy, i gangliové buňky sítnice se svými axony, tedy RNFL a posléze zrakovým nervem, jsou anatomicky obdobné bipolární postgangliové struktury.

Patofyziologicky NRTI působí tak, že jako syntetická analoga nukleosidů blokují proces reverzní transkripce virové RNA na provirovou DNA, ale negativně ovlivňují také aktivitu mitochondriální DNA polymerázy jinak zdravých

somatických buněk. [33] Mitochondrie jsou organely, které se podílejí především na energetickém a lipidovém metabolismu buněk, včetně myelinizace axonů. Jelikož buňky nervového systému, svalů, jater a pankreatu jsou metabolicky velice aktivní tkáně s vysokým obsahem mitochondrií, dochází při mitochondriální dysfunkci k poruše především těchto orgánových systémů. [147]

Odlišnosti v působení NRTI na periferní nervy a RNFL mohou být dány například rozdílem v myelinizaci obou struktur. Vlákná RNFL jsou primárně nemyelinizovaná a k jejich myelinizaci dochází až při odstupě zřakového nervu z oka. Navíc myelinizaci axonů zřakového nervu zajišťují stejně jako vlákná centřálního nervového systému (CNS) oligodendrocyty, na rozdíl od axonů periferního nervového systému (PNS), jejichž myelinizaci zajišťují Schwannovy buňky. Schwannova buňka je schopna obalit vždy pouze jeden axon periferního nervu, kdežto oligodendrocyty jsou schopny svými výběžky obalit až 50 axonů CNS či zřakového nervu a zároveň se na myelinizaci jednoho axonu podílí velké množství oligodendrocytů. [148] Právě tyto strukturální odlišnosti v myelinizaci by mohly být příčinnou rozdílného působení NRTI na nervovou tkáň PNS a CNS, tedy včetně zřakového nervu a RNFL. Z uvedeného by mohlo vyplývat, že dysfunkce určitého počtu Schwannových buňek by byla přímo úměrná počtu dysfunkčních axonů PNS, zatímco dysfunkce určitého počtu oligodendrocytů by ovlivnila CNS a axony zřakového nervu jen minimálně. Možný vliv případné descendentní léze zřakového nervu na úbytek RNFL, by se při takto vysvětleném působení toxicity léků ze skupiny NRTI na rozdíl od periferních nervů neprojevil, stejně tak jako by se neprojevil ani přímý toxický vliv NRTI na RNFL pro chybějící myelinizaci této struktury.

Domníváme se proto, že mechanismus toxického působení NRTI na nervový systém obecně by mohl být způsoben narušením metabolismu doprovodné glie, především pak Schwannových buněk, následkem čehož by docházelo k degeneraci nefunkčních axonů a apoptóze neuronů PNS. Vzhledem k uvedeným skutečnostem by se tento proces toxické degenerace dotýkal CNS, zřakového nervu a RNFL jen minimálně, a pravděpodobně i proto jsme v našem souboru nezaznamenali vliv užívání léků ze skupiny NRTI na úbytek RNFL.



## ZÁVĚR

Stanovené průměrné hodnoty parametrů RNFL v našem souboru HIV pozitivních pacientů pomocí přístroje GDx VCC byly pro TSNIT average  $57,65 \pm 6,18 \mu\text{m}$ , pro Superior average  $69,38 \pm 8,34 \mu\text{m}$  a pro Inferior average  $68,89 \pm 9,50 \mu\text{m}$ . Tyto naměřené hodnoty jsou v mezích normy a nejsou nižší ve srovnání s hodnotami naměřenými v souborech zdravých jedinců s obdobnou epidemiologickou charakteristikou. [107, 109-111]

Při zkoumání různých faktorů potenciálně ovlivňujících RNFL v našem souboru vyplynula statisticky významná negativní korelace parametrů tloušťky RNFL k délce trvání HIV infekce, která není ovlivněna věkem pacientů. Vliv alterovaného imunitního profilu charakterizovaného hodnotami nadir CD4 + T lymfocytů na tloušťku RNFL se v naší studii neprokázal. Stejně tak předpokládaná neurotoxicita antiretrovirových ze skupiny nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI) neměla na tloušťku RNFL v našem souboru prokazatelný vliv.

Úbytek RNFL asociovaný s délkou trvání onemocnění HIV je v našem souboru zatím subklinického charakteru. Nicméně, vzhledem ke zvyšující se době přežívání narůstajícího počtu HIV pozitivních pacientů lze předpokládat, že se může v budoucnu manifestovat i klinicky. Mechanismus tohoto úbytku RNFL je nejasný a mohl by být vysvětlen například dlouhodobým oxidativním stresem na imunopatologickém podkladě při infekci HIV. Prokázání takové hypotézy by bylo úkolem imunopatologických studií.

Důležitým aspektem, který rovněž vyplývá z naší studie, je i relativní bezpečnost široce užívaných antiretrovirových preparátů ze skupiny nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI) pro nervové struktury oka. Na rozdíl od toxické periferní polyneuropatie, kterou tyto léky prokazatelně způsobují, se totiž vliv toxického působení na RNFL při dlouhodobém užívání těchto léků v naší studii neprokázal. Zdá se tedy, že tato léčiva ze skupiny nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy, jež výrazně zvýšila kvalitu i délku života HIV pozitivních pacientů, lze nadále užívat bez obav z poškození vrstvy nervových vláken sítnice.

## SOUHRN

Cílem práce bylo zhodnotit vliv infekce virem lidského imunodeficitu (HIV) a její léčby na vrstvu nervových vláken sítnice (RNFL). Pomocí laserového polarimetru, přístroje GDx VCC, jsme proto stanovili tloušťku RNFL definovanou standardními parametry (TSNIT average, Superior average a Inferior average) u 48 HIV pozitivních pacientů. Výsledky měření byly porovnány s hodnotami tloušťky RNFL u zdravé populace a následně byly testovány korelace naměřených hodnot parametrů v našem souboru s faktory potenciálně ovlivňujícími tloušťku RNFL. Průměrná hodnota standardních parametrů RNFL v našem souboru byla pro TSNIT average, Superior average a Inferior average,  $57,65 \pm 6,18 \mu\text{m}$ ,  $69,38 \pm 8,34 \mu\text{m}$ , respektive  $68,89 \pm 9,50 \mu\text{m}$ . Menší tloušťka RNFL se tak ve srovnání se zdravou populací v našem souboru HIV pozitivních pacientů neprokázala. Statistická analýza rovněž neodhalila žádné významné korelace mezi tloušťkou RNFL a imunitním profilem pacientů nebo užíváním antiretrovirové terapie. Byla však zjištěna významná negativní korelace tloušťky RNFL k délce trvání HIV infekce. Tento negativní vliv délky trvání infekce na tloušťku RNFL by mohl být způsoben imunopatologickými mechanismy.

**Klíčová slova:** HIV, oční komplikace, RNFL, GDx VCC, antiretrovirová léčba

## SUMMARY

The aim of the study was to evaluate the effect of human immunodeficiency virus infection (HIV) and antiretroviral treatment on the retinal nerve fibre layer (RNFL). The RNFL thickness defined by standard parameters (TSNIT average, Superior average and Inferior average) was assessed in 48 HIV positive patients using scanning laser polarimeter, GDx VCC device. Results were compared to normal values and tested against factors suspected to affect the RNFL thickness. The mean values of the RNFL standard parameters were for TSNIT average, Superior average and Inferior average,  $57,65 \pm 6,18 \mu\text{m}$ ,  $69,38 \pm 8,34 \mu\text{m}$ ,  $68,89 \pm 9,50 \mu\text{m}$  respectively, in our cohort. The RNFL thinning was not confirmed in our HIV positive group compared to values on healthy population. No significant correlation between the RNFL thickness and the immune profile or antiretroviral therapy was detected. However, a significant negative correlation between the RNFL thickness with increasing duration of HIV infection was found in our study that is hypothesized to be possibly on an immune pathological basis.

**Keywords:** HIV, ocular complications, RNFL, GDx VCC, antiretroviral treatment

# SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Typické projevy HIV infekce v jednotlivých stádiích

Tabulka č. 2: Přehled nukleosidových inhibitorů HIV reverzní transkriptázy

Tabulka č. 3: Přehled nenukleosidových inhibitorů HIV reverzní transkriptázy

Tabulka č. 4: Přehled inhibitorů HIV proteázy

Tabulka č. 5: Inhibitory fúze

Tabulka č. 6.: Antagonisté koreceptoru CCR5

Tabulka č. 7: Inhibitory HIV integrázy

Tabulka č. 8: Doporučené profylaktické režimy (v závorce alternativní přípravky)

Tabulka č. 9: Charakteristika souboru

Tabulka č. 10: Porovnání tloušťky RNFL našeho souboru se soubory zdravých jedinců

Tabulka č. 11: Statistická významnost ( $p$ -hodnoty) srovnání RNFL našeho souboru se soubory zdravých jedinců

Tabulka č. 12: Výstup regresní analýzy vlivu délky infekce a věku na TSNIT average

Tabulka č. 13: Výstup regresní analýzy vlivu délky infekce na Superior average

Tabulka č. 14: Výstup regresní analýzy vlivu délky infekce na Inferior average

Tabulka č. 15: Výstup regresní analýzy vlivu délky infekce na NFI

Tabulka č. 16: Výstup statistické analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average, Superior average a Inferior average

Tabulka č. 17: Souvislost mezi užíváním neurotoxických léků a trváním infekce

Tabulka č. 18: Výstup regresní analýzy vlivu užívání 3 neurotoxických léků na TSNIT average

Tabulka č. 19: Výstup regresní analýzy vlivu užívání 6 neurotoxických a potenciálně neurotoxických léků na TSNIT average

Tabulka č. 20: Porovnání hodnot parametrů tloušťky RNFL našeho souboru se soubory zdravých jedinců z literatury

## SEZNAM GRAFŮ

- Graf č. 1: Osoby žijící s HIV/AIDS v České republice (pouze občané ČR a cizinci s trvalým pobytem) kumulativní měsíční údaje k 30.9.2012
- Graf č. 2: Nové případy infekce HIV v České republice (pouze občané ČR a cizinci s trvalým pobytem) podle roků k 30.9.2012
- Graf č. 3: Případy infekce HIV v České republice podle způsobu přenosu (pouze občané ČR a cizinci s trvalým pobytem) k 30.9.2012
- Graf č. 4: Graf regresní analýzy vlivu délky infekce na TSNIT average
- Graf č. 5: Graf regresní analýzy vlivu délky infekce na Superior average
- Graf č. 6: Graf regresní analýzy vlivu délky infekce na Inferior average
- Graf č. 7: Graf regresní analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average
- Graf č. 8: Graf regresní analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average (v mikrometrech) ve skupině pod 100 buněk/ul
- Graf č. 9: Graf regresní analýzy vlivu nadir CD4 + T lymfocytů na TSNIT average (v mikrometrech) ve skupině nad 100 buněk/ul
- Graf č. 10: Graf vlivu užívání 3 neurotoxických léků na TSNIT average (v mikrometrech),  $r^2=0,1373$ ,  $p=0,367$
- Graf č. 11: Graf vlivu užívání 6 neurotoxických a potenciálně neurotoxických léků na TSNIT average (v mikrometrech),  $r^2=0,1570$ ,  $p=0,301$

## SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obrázek č. 1: CMV retinitida u HIV pozitivního pacienta
- Obrázek č. 2: HIV retinopatie s četnými vatovitými exudáty
- Obrázek č. 3: Ojedinělá izolovaná kryptokoková retinitida v rámci IRIS, bez postižení CNS
- Obrázek č. 4: Pacientka s pupilotonií vlevo při Adieho syndrom v rámci HIV infekce
- Obrázek č. 5: MRI sken mozku při progresivní multifokální

leukoencefalopatii

- Obrázek č. 6: Architektonika průběhu RNFL po povrchu sítnice
- Obrázek č. 7: Imunopatologické interakce mezi makrofágy, neurony a astrocyty v CNS při HIV demenci

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Accorinti M, Pirraglia M, Corradi R: Changing patterns of ocular manifestations in HIV seropositive patients treated with cART. *Eur J Ophthalmol* 2006; 16(5): 728-32.
2. Holland G, Gottlieb M, Yee R: Ocular disorders associated with a new severe acquired cellular immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol* 1982; 93: 393-402.
3. Kozner P, Machala L, Filous A, Brozek B: Review of ocular opportunistic infections in HIV positive patients. *Cesk Slov Oftalmol* 2009; 65(1): 36-8.
4. Schuman J, Friedman A: Retinal manifestations of the acquired immune deficiency syndrome (AIDS): cytomegalovirus, candida albicans, cryptococcus, toxoplasmosis and Pneumocystis carinii. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1983; 103(2): 177-90.
5. Bartlett JG, Gallant JE, Pham PA: *Medical Management of HIV Infection* (15th edition). The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MA: Knowledge Source Solutions, 2009.
6. Freeman W, Gross J: Management of ocular disease in AIDS patients. *Ophthalmol Clin North Am* 1988; 1: 91-100.
7. Kahraman D, Krepler K, Franz C: Seven years of HAART impact on ophtalmic management of HIV-infected patients. *Ocul Immunol Inflamm* 2005; 13(2-3): 213-18.
8. Cerny R, Machala L: *Neurologické komplikace HIV / AIDS: Nakladatelství Karolinum, Univerzita Karlova, Praha, 2007.*
9. Goebel F: Immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS) - another new disease entity following treatment initiation of HIV infection. *Infection* 2005; 33: 43-45.
10. Dieterich DT: Long-term complications of nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy. *AIDS Read* 2003; 13: 176-84, 187.
11. Kozner P, Filous A, Jilich D, Brozek B, Maly M, Machala L: Scanning Laser Polarimetry in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *Neuro-Ophthalmology* 2011; 35(4): 187-190.
12. Gottlieb M, Schroff R, Schanker H, et al.: Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. Evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981; 258: 1452-1431.
13. Friedman-Kien A, Laubenstein L, Rubinstein P, et al.: Disseminated Kaposi's sarcoma in homosexual men. *Ann Intern Med* 1982; 96: 693-700.
14. Barre-Sinoussi F, Chermann J, Rey F, et al.: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220: 868-871.
15. Gallo R, Salahudin S, Popovic M, et al.: Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220: 865-867.
16. UNAIDS: *AIDS epidemic update: special report on HIV/AIDS: December 2006.* Geneva, 2006.
17. Maly M: *Surveillance of HIV/AIDS in the Czech Republic.* National Institute of Public Health, 2012.
18. Holmes E: On the origin and evolution of the human immunodeficiency virus (HIV). *Biol Rev Camb Philos Soc* 2001; 76: 239-254.
19. Wolfe N, Switzer W, Carr J, et al.: Naturally acquired simian retrovirus infections in central African hunters. *Lancet* 2004; 363: 932-937.
20. Fields B, Knipe D, Howley P: *Fundamental virology* (3rd edition): Raven Press, Ltd., 1995.
21. Cullen B: Human immunodeficiency virus as a prototypic complex retrovirus. *J Virol* 1991; 65: 1053-1056.
22. Roberts J, Bebenek K, Maniatis T: The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. *Science* 1989; 242: 1171-1173.
23. Dalgleish A, Beverly P, Clapham P, et al.: The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984; 312: 763-767.
24. Batmanian J, Brew B: Clinical significance of central nervous system as sanctuary site for

HIV. *J HIV Ther* 2005; 10: 16-21.

**25.** Ferrara JL, Abhyankar S, Gilliland DG: Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc* 1993; 25(1-2): 1216-7.

**26.** Russo MF: HIV and macrophage. *Pathol Biol (Paris)* 1997; 45(2): 137-45.

**27.** Ertel W, Morrison MH, Wang P, Ba ZF, Ayala A, Chaudry IH: The complex pattern of cytokines in sepsis. Association between prostaglandins, cachectin, and interleukins. *Ann Surg* 1991; 214(2): 141-148.

**28.** Rozsypal H, Stankova M, Sedláček D, et al.: Doporučený postup komplexní péče o dospělé infikované HIV. *Klin mikrobiol inf lek* 2010; 16(5): 183-191.

**29.** Pomeranz R: Reservoirs of HIV type 1: the main obstacle to viral eradication. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 91-97.

**30.** Rozsypal H, Staňková M, Machala L, et al.: Profylaxe vertikálního přenosu viru lidské imunodeficiency (HIV) v České republice. *Klin mikrobiol inf lek* 2006; 12: 63-68.

**31.** Vaclavikova J, Weber J, Machala L, et al.: Long-term analysis of the resistance development in HIV-1 positive patients treated with protease and reverse transcriptase inhibitors: correlation of the genotype and disease progression. *Acta Virol* 2005; 49: 29-36.

**32.** Brook I: Approval of zidovudine (AZT) for acquired immunodeficiency syndrome. *JAMA* 1987; 258: 1517.

**33.** White A: Mitochondrial toxicity and HIV therapy. *Sex Trans Inf* 2001; 77: 158-173.

**34.** Murphy R: Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS Clin Care* 1997; 9: 75-79.

**35.** Brew B: The peripheral nerve complications of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Muscle Nerve* 2003; 28: 542-552.

**36.** Hirsch H, Kaufmann G, Sendi P: Immune reconstitution in HIV-infected patients. *Clin Inf Dis* 2004; 38: 1159-1166.

**37.** Whitcup SM, Butler KM, Caruso R, et al.: Retinal toxicity in human immunodeficiency virus-infected children treated with 2',3'-dideoxyinosine. *Am J Ophthalmol* 1992; 113: 1.

**38.** Lewis A, Mitchell S: Efavirenz and retinal toxicity. *Eye* 2002; 16: 107.

**39.** Mackey DA, Fingert JH, Luzhansky JZ, McCluskey PJ, et al.: Leber's hereditary optic neuropathy triggered by antiretroviral therapy for human immunodeficiency virus. *Eye* 2003; 17: 312-317.

**40.** Karbassi M, Nikou S: Acute uveitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome receiving prophylactic rifabutin. *Arch Ophthalmol* 1995; 113: 699.

**41.** Jeng BH, Holland GN, Lowder CY, Deegan WF 3rd, Raizman MB, Meisler DM: Anterior segment and external ocular disorders associated with human immunodeficiency virus disease. *Surv Ophthalmol* 2007; 52(4): 329-68.

**42.** Jackson J, Erice A, Englund J: Prevalence of cytomegalovirus antibody in hemophiliacs and homosexuals infected with human immunodeficiency virus type 1. *Transfusion* 1988; 28(2): 187-9.

**43.** Jabs D, Enger C, Bartlett J: Cytomegalovirus retinitis and acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Ophthalmol* 1989; 107: 75-80.

**44.** Jacobson M, Stanley H, Holtzer C: Natural history and outcome of new AIDS-related cytomegalovirus retinitis diagnosed in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 231-3.

**45.** O'Sullivan C, Drew W, McMullen D: Decrease of cytomegalovirus replication in human immunodeficiency virus infected-patients after treatment with highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 1999; 180(3): 847-849.

**46.** Teich S, Orellana J: Retinal lesions in cytomegalovirus infection. *Ann Intern Med* 1986; 104: 132.

**47.** Kozner P: Atestacni prace: Vyvoj oportunnich ocnich komplikaci u infekce HIV. 2011.

**48.** Cole E, Meisler D, Calabrese L: Herpes zoster ophthalmicus and acquired immune deficiency syndrome. *Arch Ophthalmol* 1984; 102: 1027-9.

**49.** Gebo K, Kalyani R, Moore R: The incidence of, risk factors for, and sequelae of herpes zoster among HIV patients in the highly active antiretroviral therapy era. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40(2): 169-74.

**50.** Colebunders R, Mann J, Francis H: Herpes zoster in African patients: a clinical predictor of human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1988; 157(2): 314-8.

**51.** Sandor E, Millman A, Croxson TS, Mildvan D: Herpes zoster ophthalmicus in patients at risk for the acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Am J Ophthalmol* 1986; 101: 153-5.

**52.** Engstrom R, Holland G, Margolis T: The progressive outer retinal necrosis syndrome. A variant of necrotizing herpetic retinopathy in patients with AIDS. *Ophthalmology* 1994; 101: 1488-

1502.

- 53.** Franco-Paredes C, Bellehumeur T, Merchant A: Aseptic meningitis and optic neuritis preceding varicella-zoster progressive outer retinal necrosis in a patient with AIDS. *AIDS* 2002; 16: 1045–1049.
- 54.** Wang A, Liu J, Hsu W: Optic neuritis in herpes zoster ophthalmicus. *Jpn J Ophthalmol* 2000; 44: 550-554.
- 55.** Moorthy R, Weinberg D, Teich S: Management of varicella zoster retinitis in AIDS. *Brit J Ophthalmol* 1997; 81: 189-194.
- 56.** Lynn W, Lightman S: Syphilis and HIV: a dangerous combination. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 456-466.
- 57.** Ditzen A, Braker K, Zoellner K: The syphilis-HIV interdependency. *Int J STD AIDS* 2005; 16: 642-643.
- 58.** Cohen C, Winston A, Asboe D: Increasing detection of asymptomatic syphilis in HIV patients. *Sex Transm Infect* 2005; 81: 217-219.
- 59.** McLeish W, Pulido J, Holland S: The ocular manifestations of syphilis in the human immunodeficiency virus type 1-infected host. *Ophthalmology* 1990; 97: 196-203.
- 60.** Karumudi U, Augenbraun M: Syphilis and HIV: a dangerous duo. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005; 3: 825-831.
- 61.** Levy J, Liss R, Maguire M: Neurosyphilis and ocular syphilis in patients with concurrent human immunodeficiency virus infection. *Retina* 1989; 9: 175-80.
- 62.** Vanousova D, Cerny R, Zakoucká H, et al.: Neurosyphilis. *Cesk Slov Neurol N* 2012; 75/108(3): 297-302.
- 63.** Hall C, Klausner J, Bolan G: Managing syphilis in the HIV-infected patient. *Curr Infect Dis Rep* 2004; 6: 72-81.
- 64.** Kodym P, Maly M, Svandova M: Toxoplasmosis in the Czech Republic 1923-1999: First case to widespread outbreak. *Int J Parasitol* 2001; 31: 125-132.
- 65.** Kodym P, Hrda S, Machala L: Prevalence and incidence of Toxoplasma infection in HIV-positive patients in the Czech republic. *J Eukaryot Microbiol* 2006; 53(1): 160-161.
- 66.** Zajdenweber M, Muccioli C, Belfort R: Ocular involvement in AIDS patients with central nervous system toxoplasmosis: before and after cART. *Arq Bras Oftalmol* 2005; 68(6): 773-5.
- 67.** Orti A, Roig P, Chipont E: Ocular toxoplasmosis in human immunodeficiency virus infected patients without concurrent central nervous system infection. Report of two cases. *An Med Interna* 1996; 13: 390-392.
- 68.** Quinlan P, Jabs J: Ocular toxoplasmosis. *Retina* 1989; 9: 563.
- 69.** Machala L, Kodym P, Rozsypal H: Doporučený postup diagnostiky a terapie toxoplasmózy u osob s HIV infekcí. *Klin mikrobiol inf lek* 2007; 13: 248-252.
- 70.** Eltom M, Jemal A, Mbulaiteye S: Trends in Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma incidence in the United States from 1973 through 1998. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(16): 1204-10.
- 71.** Chang Y, Cesarman E, Pessin M: Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994; 266(5192): 1865-9.
- 72.** Jones J, Hanson D, Dworkin M: Incidence and trends in Kaposi's sarcoma in the era of effective antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; 24(3): 270-4.
- 73.** Suchankova A, Stankova M, Roubalova K: Seroprevalence of HHV 8 antibodies among the general population and HIV positive persons in the Czech Republic. *J Clin Virol* 2003; 28: 70-76.
- 74.** Chokunonga E, Levy L, Bassett M: Cancer incidence in the African population of Harare, Zimbabwe: second results from the cancer registry 1993-1995. *Int J Cancer* 2000; 85(1): 54-9.
- 75.** Vanousova D, Jilich D, Machala L, et al.: Diagnostic pitfalls of HIV-associated Kaposi's sarcoma. *Klin Onkol* 2010; 23(5): 285-92.
- 76.** Jabs D: AIDS retinopathy: findings and significance. *Ophthalmol Clin North Am* 1988; 1: 101.
- 77.** Kozner P, Machala L, Rozsypal H, Brozek B: HIV retinopathy. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2009; 15(5): 183-4.
- 78.** Goldberg D, Smithen L, Angelilli A: HIV-associated retinopathy in the HAART era. *Retina* 2005; 25: 35-43.
- 79.** Geier SA, Nohmeier C, Lachenmayr BJ, Klauss V, Goebel FD: Deficits in perimetric performance in patients with symptomatic human immunodeficiency virus infection or acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol* 1995; 119: 335-44.
- 80.** Jevtovic D, Salemovic D, Ranin J: The prevalence and risk of immune restoration disease in HIV-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2005; 6: 140-143.
- 81.** Kozner P, Rozsypal H, Machala L, Filous A, Brozek B: Two types of CMV ocular complications in patients with HIV infection. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2009; 15(5): 180-2.



82. Karavellas M, Azen S, MacDonald J: Immune recovery vitritis and uveitis in AIDS: clinical predictors, sequelae, and treatment outcomes. *Retina* 2001; 21(1): 1-9.
83. Henderson H, Mitchell S: Treatment of immune recovery vitritis with local steroids. *Brit J Ophthalmol* 1999; 83: 540-545.
84. Karavellas M, Song M, MacDonald J: Long-term posterior and anterior segment complications of immune recovery uveitis associated with cytomegalovirus retinitis. *Am J Ophthalmol* 2000; 130(1): 103-106.
85. Mwanza JC, Nyamabo LK, Tylleskär T, GT P: Neuro-ophthalmological disorders in HIV infected subjects with neurological manifestations. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(11): 1455–1459.
86. Mansour AM: Neuro-ophthalmic findings in acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Neuroophthalmol* 1990; 10(3): 167-74.
87. Cerny R, Rozsypal H, Kozner P, Machala L: Bilateral Holmes-Adie syndrome as an early manifestation of the HIV neuropathy. *Neurol Sci* 2010; 31(5): 661-3.
88. Kelly CM, Miller AR, Aji B, Solomon T: HIV dementia: a diagnosis to keep in mind. *Br J Hosp Med (Lond)* 2012; 73(7): 410-1.
89. Antinori A, Arendt G, Becker JT: Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* 2007; 69: 1789-99.
90. Plummer DJ, Bartsch DU, Azen SP, Max S, Sadun AA, Freeman WR: Retinal nerve fiber layer evaluation in human immunodeficiency virus-positive patients. *Am J Ophthalmol* 2001; 131: 216-22.
91. Kozak I, Bartsch DU, Cheng L, Kosobucki BR, Freeman WR: Objective analysis of retinal damage in HIV-positive patients in the HAART era using OCT. *Am J Ophthalmol* 2005; 139: 295-301.
92. Besada E, Shechtman D, Black G, Hardigan PC: Laser scanning confocal ophthalmoscopy and polarimetry of human immunodeficiency virus patients without retinopathy, under antiretroviral therapy. *Optom Vis Sci* 2007; 84: 189-96.
93. Quiceno JI, Capparelli E, Sadun AA: Visual dysfunction without retinitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol* 1992; 113: 8-13.
94. Geier SA, Kronawitter U, Bogner JR: Impairment of colour contrast sensitivity and neuroretinal dysfunction in patients with symptomatic HIV infection or AIDS. *Br J Ophthalmol* 1993; 77: 716-20.
95. Sadun AA, Pepose JS, Madigan MC, Laycock KA, Tenhula WN, Freeman WR: AIDS-related optic neuropathy: a histological, virological and ultrastructural study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233(7): 387-98.
96. Tenhula WN, Xu SZ, Madigan MC, Heller K, Freeman WR, Sadun AA: Morphometric comparisons of optic nerve axon loss in acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol* 1992; 113: 14-20.
97. Thierfelder S, Gramer E, Serguhn S: Measuring retinal nerve fiber density with laser polarimetry in patients with AIDS in comparison with health probands with reference to computer perimetry findings. A pilot study using the nerve fiber analyzer. *Klin Monbl Augenheilkd* 1995; 206: 165-9.
98. Dreher AW RK: Retinal laser ellipsometry: a new method for measuring the retinal nerve fiber layer thickness distribution. *Clin Vis Sci* 1992; 7: 481-8.
99. Hemenger RP: Birefringence of a medium of tenous parallel cylinders. *Appl Opt* 1989; 28: 4030.
100. Morgan JE, Waldock A, Jeffery G, Cowey A: Retinal nerve fibre layer polarimetry: histological and clinical comparison. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 684-90.
101. Weinreb RN, Dreher AW, Coleman A: Histopathologic validation of Fourier-ellipsometry measurements of retinal nerve fiber layer thickness. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 557-60.
102. Greenfield DS, Knighton RW, Feuer WJ, Schiffman JC, Zangwill L, Weinreb RN: Correction for corneal polarization axis improves the discriminating power of scanning laser polarimetry. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 27-33.
103. Levin LA, Albert DM: *Adler's Physiology of the Eye and Ocular Disease: Mechanisms and Management*: Elsevier, 2010.
104. Reus NJ, Lemij HG: Diagnostic accuracy of the GDx VCC for glaucoma. *Ophthalmology* 2004; 111: 1860-5.
105. Carl Zeiss Meditec AG: GDx Primer Chapter 3. [http://www.zeiss.com/C125679E00525939/EmbedTitelIntern/GDxPrimerChapter3/\\$File/GDx\\_Primer\\_Chapter3.pdf](http://www.zeiss.com/C125679E00525939/EmbedTitelIntern/GDxPrimerChapter3/$File/GDx_Primer_Chapter3.pdf). 2012.
106. Katzenstein TL: Molecular biological assessment methods and understanding the course of

the HIV infection. *APMIS Suppl* 2003; 114: 1-37.

**107.** Reus NJ, Lemij HG: Scanning laser polarimetry of the retinal nerve fiber layer in perimetrically unaffected eyes of glaucoma patients. *Ophthalmology* 2004; 111: 2199-203.

**108.** Kook MS, Cho HS, Seong M, Choi J: Scanning laser polarimetry using variable corneal compensation in the detection of glaucoma with localized visual field defects. *Ophthalmology* 2005; 112: 1970-8.

**109.** Liu X, Huang J, Ge J, Ling Y, Zheng X: The study of retinal nerve fiber layer thickness of normal eyes using scanning laser polarimetry. *Yan Ke Xue Bao* 2006; 22: 175-83.

**110.** Da Pozzo S, Iacono P, Marchesan R, Minutola D, Ravalico G: The effect of ageing on retinal nerve fibre layer thickness: an evaluation by scanning laser polarimetry with variable corneal compensation. *Acta Ophthalmol Scand* 2006; 84: 375-9.

**111.** Salvetat ML, Zeppieri M, Felletti M, Parisi L, Brusini P: Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness analysis with scanning laser polarimetry (GDx VCC) in normal children. *J Glaucoma* 2010; 19: 51-7.

**112.** Carl Zeiss Meditec AG: GDx Pro user manual: [http://www.meditec.zeiss.com/C125679E00525939/EmbedTitelIntern/GDxPRO\\_User\\_Manual.pdf/\\$File/GDxPRO\\_User\\_Manual.pdf](http://www.meditec.zeiss.com/C125679E00525939/EmbedTitelIntern/GDxPRO_User_Manual.pdf/$File/GDxPRO_User_Manual.pdf). 2012.

**113.** Fortune B, Wang L, Cull G, Cioffi GA: Intravitreal colchicine causes decreased RNFL birefringence without altering RNFL thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(1): 255-261.

**114.** Huang XR, Knighton RW: Microtubules contribute to the birefringence of the retinal nerve fiber layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(12): 4588-4593.

**115.** Lee S, Sung KR, Cho JW, Cheon MH, Kang SY, Kook MS: Spectral-domain optical coherence tomography and scanning laser polarimetry in glaucoma diagnosis. *Jpn J Ophthalmol* 2010; 54(6): 544-9.

**116.** Kremmer S, Keienburg M, Anastassiou G, Schallenberg M, Steuhl KP, JM S: Scanning laser topography and scanning laser polarimetry: comparing both imaging methods at same distances from the optic nerve head. *Open Ophthalmol J* 2012; 6: 6-16.

**117.** DeLeon Ortega JE, Sakata LM, Kakati B, et al.: Effect of glaucomatous damage on repeatability of confocal scanning laser ophthalmoscope, scanning laser polarimetry, and optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(3): 1156-63.

**118.** Aptel F, Sayous R, Fortoul V, Beccat S, Denis P: Structure-function relationships using spectral-domain optical coherence tomography: comparison with scanning laser polarimetry. *Am J Ophthalmol* 2010; 150(6): 825-33.

**119.** Blumenthal EZ, Frenkel S: Inter-device reproducibility of the scanning laser polarimeter with variable cornea compensation. *Eye (Lond)* 2005; 19: 308-11.

**120.** Kogure S, Kohwa H, Tsukahara S: Effect of uncompensated corneal polarization on the detection of localized retinal nerve fiber layer defects. *Ophthalmic Res* 2008; 40(2): 61-8.

**121.** Lemij HG, Reus NJ: New developments in scanning laser polarimetry for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2008; 19(2): 136-40.

**122.** Alasil T, Wang K, Keane PA, et al.: Analysis of Normal Retinal Nerve Fiber Layer Thickness by Age, Sex, and Race Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *J Glaucoma* 2012; Post Author Correction Apr 30.

**123.** Budenz DL, Anderson DR, Varma R, et al.: Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmology* 2007; 114(6): 1046-52.

**124.** Chang R, Budenz DL: New developments in optical coherence tomography for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2008; 19(2): 127-35.

**125.** Knight OJ, Girkin CA, Budenz DL, Durbin MK, Feuer WJ: Effect of race, age, and axial length on optic nerve head parameters and retinal nerve fiber layer thickness measured by Cirrus HD-OCT. *Arch Ophthalmol* 2012; 130(3): 312-8.

**126.** Lang GE, Spraul CW, Lang GK: Ocular changes in primary hematologic diseases. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1998; 212(6): 419-27.

**127.** Kaul M, Lipton SA: Chemokines and activated macrophages in HIV gp120-induced neuronal apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 8212-6.

**128.** Brew BJ: Markers of AIDS dementia complex: the role of cerebrospinal fluid assays. *AIDS* 2001; 15(14): 1883-4.

**129.** Nath A, Conant K, Chen P, Scott C, Major EO: Transient exposure to HIV-1 Tat protein results in cytokine production in macrophages and astrocytes. A hit and run phenomenon. *J Biol Chem* 1999; 274: 17098-102.

**130.** McLeod D, Marshall J, Kohner EM, Bird AC: The role of axoplasmic transport in the pathogenesis of retinal cotton-wool spots. *Br J Ophthalmol* 1977; 61(3): 177-91.

- 131.** McLeod D: Why cotton wool spots should not be regarded as retinal nerve fibre layer infarcts. *Br J Ophthalmol* 2005; 89(2): 229-37.
- 132.** Schmidt D: The mystery of cotton-wool spots - a review of recent and historical descriptions. *Eur J Med Res* 2008; 13(6): 231-66.
- 133.** Huang Y, Erdmann N, Zhao J, Zheng J: The signaling and apoptotic effects of TNF-related apoptosis-inducing ligand in HIV-1 associated dementia. *Neurotox Res* 2005; 8: 135-48.
- 134.** Saha RN, Pahan K: Tumor necrosis factor-alpha at the crossroads of neuronal life and death during HIV-associated dementia. *J Neurochem* 2003; 86: 1057-71.
- 135.** Saadati HG, Khan IA, Lin XH, Kadakia AB, Heller KB, Sadun AA: Immunolocalization of IL-1beta and IL-6 in optic nerves of patients with AIDS. *Curr Eye Res* 1999; 19: 264-8.
- 136.** Madigan MC, Sadun AA, Rao NS, Dugel PU, Tenhula WN, Gill PS: Tumor necrosis factor-alpha induced optic neuropathy in rabbits. *Neurol Res* 1996; 18: 176-84.
- 137.** Dore GJ, Correll PK, Li Y, Kaldor JM, Cooper DA, Brew BJ: Changes to AIDS dementia complex in the era of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 1999; 13(10): 1249-53.
- 138.** Tozzi V, Balestra P, Lorenzini P, et al.: Prevalence and risk factors for human immunodeficiency virus-associated neurocognitive impairment, 1996 to 2002: results from an urban observational cohort. *J Neurovirol* 2005; 11(3): 265-73.
- 139.** Kelder W, McArthur JC, Nance-Sproson T, McClernon D, Griffin DE:  $\beta$ -Chemokines MCP-1 and RANTES are selectively increased in cerebrospinal fluid of patients with human immunodeficiency virus-associated dementia. *Ann Neurol* 1998; 44(5): 831-835.
- 140.** Minagar A, Shapshak P, Fujimura R, Ownby R, Heyes M, Eisdorfer C: The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2002; 202(1-2): 13-23.
- 141.** Jana A, Pahan K: Human immunodeficiency virus type 1 gp120 induces apoptosis in human primary neurons through redox-regulated activation of neutral sphingomyelinase. *J Neurosci* 2004; 24(43): 9531-40.
- 142.** Zhao ML, Kim MO, Morgello S, Lee SC: Expression of inducible nitric oxide synthase, interleukin-1 and caspase-1 in HIV-1 encephalitis. *J Neuroimmunol* 2001; 115(1-2): 182-91.
- 143.** Austin BA, Liu B, Li Z, Nussenblatt RB: Biologically active fibronectin fragments stimulate release of MCP-1 and catabolic cytokines from murine retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 2896-902.
- 144.** Bringmann A, Wiedemann P: Müller glial cells in retinal disease. *Ophthalmologica* 2012; 227(1): 1-19.
- 145.** Dalakas MC: Peripheral neuropathy and antiretroviral drugs. *J Peripher Nerv Syst* 2001; 6(1): 14-20.
- 146.** Cherry CL, Skolasky RL, Lal L: Antiretroviral use and other risks for HIV-associated neuropathies in an international cohort. *Neurology* 2006; 66: 867-73.
- 147.** Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell WV: *Harperova Biochemie: Lange medical book / nakladatelstvi a vydavatelstvi H&H*, 1998.
- 148.** Baumann N, Pham-Dinh D: Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev* 2001; 81(2): 871-927.

## PŘÍLOHA – PŘEHLED PUBLIKACÍ S PODKLADEM K DISERTACI (AUTOR, SPOLUAUTOR)

### S IMPACT FAKTOREM:

- **KOŽNER P**, FILOUŠ A, JILICH D, BROŽEK B, MALÝ M, MACHALA L. Scanning Laser Polarimetry in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. *Neuro-Ophthalmology*. 2011 Aug;35(4):187-190.
- ČERNÝ R, ROZSYPAL H, **KOŽNER P**, MACHALA L. Bilateral Holmes-Adie syndrome as an early manifestation of the HIV neuropathy. *Neurol Sci*. 2010 Oct;31(5):661-3.
- VAŇOUSOVÁ D, ČERNÝ R, ZÁKOUCKÁ H, **KOŽNER P**, JILICH D, LISÝ J, HERCOGOVÁ J, MACHALA L. Neurosyphilis. *Cesk Slov Neurol N*. 2012 ;75/108(3):297-302.

### BEZ IMPACT FAKTORU, V RECENZOVANÝCH ČASOPISECH:

- **KOŽNER P**, MACHALA L, ROZSYPAL H, BROŽEK B. HIV retinopatie. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2009 Oct;15(5):183-4.
- **KOŽNER P**, ROZSYPAL H, MACHALA L, FILOUŠ A, BROŽEK B. Dva typy cytomegalovirového postižení oka u pacientů s HIV infekcí. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2009 Oct;15(5):180-2.
- **KOŽNER P**, MACHALA L, FILOUŠ A, BROŽEK B. Přehled vývoje okulárních oportunních infekcí u HIV pozitivních pacientů. *Cesk Slov Oftalmol*. 2009 Jan;65(1):36-8.