

## Chlamydial Infections of CNS: Potential model for human demyelinating disease.

S. Sriram, MD. Department of Neurology, Vanderbilt Medical Center.

*C. pneumoniae* is an obligate intracellular microorganism that is a common cause of respiratory infections in humans. Although tropism of *C. pneumoniae* to the CNS has not been clearly established, a number of case studies have reported the development of acute neurological syndromes following *C. pneumoniae* infection. These disorders include encephalitis, myelitis, vasculitis and clinical picture similar to ADEM. There is considerable debate on the role of *C. pneumoniae* persistence and their role in chronic diseases including those that affect the CNS such as multiple sclerosis.

We undertook an immunohistochemical analysis of CNS tissue and cerebrospinal fluid sediment of MS patients and other neurological disease (OND) controls. In eight of 20 MS cases but not in controls, immuno-staining for *C. pneumoniae* antigens was seen in the periventricular regions and on ependymal surface using three different anti-chlamydial antibodies. PCR studies for the presence of *C. pneumoniae* genes was done in frozen CNS tissue using two different primers for *C. pneumoniae* genes. PCR signal was confirmed in 5 of 8 MS cases and in 3 of 18 OND controls. These studies along with the evidence of a PCR signal to *C. pneumoniae* genes in the CSF suggests that in a subset of MS patients, presence of *C. pneumoniae* antigens is evident suggesting a causal association between organism and disease.

Staining for *C. pneumoniae* was absent in regions of active inflammation but was prominent on ependymal cells. The presence of staining for chlamydial antigens on the ependymal surface of the ventricles and in the subependymal regions may suggest an alternate route of entry. We speculate that the circumventricular organs may represent a mode of entry of infected mononuclear cells into the CNS. These regions, that lack the blood brain barrier, and consist of loosely connected vascular tissue, comprise the area postrema, (caudal region of the fourth ventricle), median eminence, subcommissural organ, and the subfornicular organ. These regions lie close to the ventricular space and the capillary blood vessels lack tight junctions and astrocytic foot processes. The presence of demyelinating lesions in areas of close proximity to the CMO, periventricular and areas around the fourth ventricle supports this hypothesis.

Mechanism by which chlamydial infection can result in demyelination is not clear. We will present a model of CNS demyelination that induces a pattern of demyelination following direct injection of LPS into the corpus callosum of rats. Four weeks following the injection of LPS, extensive demyelination of white matter tracts that resemble type III oligodendrogliopathy is seen. These observations support the possibility that a chronic infection with a bacterial infection can produce a pathological picture that shows similarities with multiple sclerosis.

### **Chlamydiové infekce centrální nervové soustavy: Potenciální model demyelinizační nemoci**

*Chlamydie pneumoniae* je obligátní vnitrobuněčný mikroorganismus, který patří k běžným původcům lidských respiračních infekcí. Ačkoliv tropismus chlamydie pneumonie do centrální nervové soustavy nebyl dosud jasně stanoven, mnohé odborné studie udávají souvislost rozvoje akutních neurologických syndromů na podkladě infekce *Ch. pneumoniae*. Tyto poruchy zahrnují encefalitidu, myelitidu, vasculitidu a klinický obraz, podobný akutní roztroušené encephalomyelitidě (ADEM). V současnosti se vede vážná debata o roli, jakou sehrává persistující infekce chlamydií *pneumoniae*, i o jejím vlivu na chronická onemocnění včetně těch, která postihují centrální nervovou soustavu, jako je například roztroušená skleróza.

Provedli jsme imunohistochemickou analýzu tkáně centrální nervové soustavy a sedimentu cerebrospinalního likvoru (CSF) u pacientů s roztroušenou sklerózou a u kontrolní skupiny pacientů s jinými neurologickými poruchami. Za použití tří různých anti-chlamydiových protilátek byla imunologickým značením proti *Ch. pneumoniae* prokázána pozitivita v periventrikulární oblasti a na povrchu ependymu u 8 z 20 pacientů s roztroušenou sklerózou (ale ne u kontrolní skupiny). Na prokázání přítomnosti genu *Ch. pneumoniae* ve zmražené mozkové tkáni byla použita PCR metoda s využitím dvou různých primerů (malá molekula potřebná k zahájení syntézy makromolekuly, např. oligonukleotid specifické sekvence k syntéze DNA – pozn. překladatele). Pozitivní nález byl potvrzen u 5 z 8 případů pacientů s MS a u 3 z 18 pacientů z kontrolní skupiny. Tyto studie prokazující přítomnost genu *C. pneumoniae* v mozkomíšním moku pomocí PCR, dávají podnět domnívat se, že v podskupině pacientů s roztroušenou sklerózou přítomnost protilátek na *Chlamydie pneumoniae* evidentně nasvědčuje příčinnou souvislost mezi organismem (chlamydie) a nemocí.

Pozitivita na *C. pneumoniae* nebyla přítomna v oblastech aktivního zánětu, ale převládala na ependymálních buňkách. Přítomnost positivity *Chl.* antigenu na povrchu ependymových buněk komor a v subependymálních oblastech může poukazovat na alternativní cestu vstupu. Uvažujeme, že orgány komorového systému můžou představovat možný způsob vstupu infikovaných mononukleárů do CNS. Tyto oblasti, kde je oslabena hemato-encefalická bariéra a které se skládají z volně propojených vaskulárních tkání, jsou: area postrema (kaudální oblast 4. komory), mediální eminence, subkomisurální a subfornikulární oblast. Tyto oblasti leží blízko komorového systému a jejich kapiláry ztrácí těsné napojení a astrocyty neobsahují podocyty. Tuto teorii podporuje nález demyelinizačních lézí v oblasti proximálně od CMO, periventrikulárně a v oblasti kolem 4. komory mozkové.

Mechanismus, kterým může chlamydiová infekce vyústit ve zničení myelinu není jasný. Chceme ukázat model demyelinizace centrální nervové soustavy, kde je navozen modelový typ demyelinizace pomocí přímé injekční aplikace LPS (lipopolysacharid) do corpus callosum u krys. Za 4 týdny po aplikaci LPS byla pozorována rozsáhlá demyelinizace bílé hmoty mozkových drah, která se podobá oligodendrogliopatii typu III. Toto sledování podporuje předpoklad, že chronická infekce spolu s bakteriální infekcí, mohou vyvolávat patologický obraz, který vykazuje podobnosti s MS.