

ABSTRAK

Infeksi dengan satu atau lebih anggota famili *Human herpesviruses* (HHVs) sangat umum terjadi pada individu yang terinfeksi *Human immunodeficiency virus* tipe 1 (HIV-1). Studi epidemiologi menunjukkan kemungkinan adanya hubungan yang kuat antara HHVs dan HIV-1. Infeksi HIV-1 diduga dapat meningkatkan risiko infeksi dan reaktivasi HHVs. Sebaliknya, infeksi HHVs dapat meningkatkan kerentanan seseorang terhadap infeksi HIV-1 dan mempercepat perkembangan penyakit. *Herpes simplex virus* (HSV) dan *Human cytomegalovirus* (HCMV) adalah anggota HHVs yang paling patogen dan sering menjadi penyebab infeksi di dalam rongga mulut pada pasien HIV. Rongga mulut diketahui merupakan salah satu sumber potensial dari penyebaran virus, namun mekanisme interaksi biologis antara HIV-1 dan HHVs di dalam rongga mulut sampai sekarang masih belum jelas.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek dari HIV-1 protein (Tat dan gp120) dan HIV-1 virion pada integritas *tight junctions* sel epitel oral *monolayer*, serta konsekuensinya terhadap eksposur HSV-1 dan HCMV, dan sebaliknya, untuk mengetahui peran kedua anggota HHVs tersebut terhadap eksposur HIV-1 pada sel epitel oral *monolayer*.

Penelitian ini merupakan penelitian *true-experimental in vitro*. Penelitian ini menggunakan model sel epitel oral *monolayer* terpolarisasi. Integritas *tight junctions* dievaluasi dengan pemeriksaan *transepithelial resistance* (TER), permeabilitas paraselular, dan pemeriksaan *immunofluoresence*. *Transepithelial resistance* diukur dengan volt ohmmeter Millicell-ERS epitel. Permeabilitas paraselular ditentukan dengan *horseradish peroxidase* (HRP) *leakage assay*. Penetrasi HSV-1 melalui jalur paraselular ditentukan dengan HSV-1 *infectivity assay* dengan menggunakan sel Vero *monolayer*. Sel yang terinfeksi HSV diamati dengan pemeriksaan *immunofluoresence* menggunakan antibodi spesifik untuk HSV-1 ICP4. Penetrasi HCMV melalui jalur paraselular ditentukan dengan HCMV *infectivity assay* pada sel *human foreskin fibroblast* (HFF) dan pemeriksaan *immunofluoresence* untuk mengamati ekspresi gB sebagai indikator sel yang terinfeksi HCMV. Pada percobaan sebaliknya, sel epitel oral *monolayer* diekspos oleh HSV-1 dan HCMV, dan integritas *tight junctions* dievaluasi. TZM-bl *assay* dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dilakukan untuk menentukan jumlah HIV-1 yang bermigrasi melalui sel epitel oral *monolayer*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein *wild type*-Tat dan gp120 mengakibatkan kerusakan *tight junctions* (*claudin-1*, *ZO-1*, *occludin*), penurunan TER, dan peningkatan permeabilitas paraselular yang signifikan ($p < 0,05$). Perubahan sawar epitel tersebut dapat menyebabkan penetrasi HSV-1 dan HCMV melalui ruang paraselular, berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok epitel *monolayer* yang diekspos oleh *mutant*-Tat dan gp120 *heat inactivated*. Data serupa juga diperoleh ketika epitel *monolayer* diinduksi oleh HIV-1 virion dan *UV-irradiated* HIV-1, menunjukkan perubahan integritas sawar epitel dan ditemukannya sejumlah HSV-1 dan HCMV yang melintasi ruang paracellular, berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok *mock*. Percobaan sebaliknya menunjukkan bahwa kerusakan epitel yang disebabkan oleh HSV-1 dan HCMV menyebabkan migrasi sejumlah HIV-1 yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$) dari permukaan apikal ke permukaan basal sel epitel oral *monolayer*.

Simpulan penelitian yaitu protein HIV-1 (Tat dan gp 120) dan HIV-1 virion memainkan peran penting dalam gangguan integritas sawar epitel oral dan dapat memberikan dampak terhadap penetrasi HHVs melalui jalur paraselular, dan sebaliknya kerusakan epitel akibat HHVs dapat menyebabkan masuknya HIV-1. Penelitian ini menunjukkan hubungan yang substansial antara HIV-1 dan HHVs pada sel epitel oral *monolayer* terpolarisasi.

Kata kunci: HCMV, HIV-1, HSV, *tight junctions*

ABSTRACT

Evidence of infection with one or more of the Human herpes viruses (HHVs) is common in Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected individuals. Epidemiological studies suggested the possibility of a synergistic relationship between HHVs and HIV-1. HHVs infection may increase risk of HIV-1 acquisition and reactivation. In contrast, HHVs infections may increase an individual's susceptibility to HIV-1 infection, reactivation or accelerate HIV-1 disease progression. Herpes simplex virus (HSV) and Human cytomegalovirus (HCMV) are the most common and pathogen members of HHVs in oral cavity of HIV-1-infected persons. However the mechanism of their biological interactions in oral cavity has not been fully elucidated.

The aims of the study are to analysis the effects of HIV-1 proteins (Tat and gp120) and HIV-1 virions on the tight junctions integrity and their consequences of HSV-1 and HCMV exposure, and vice versa, to determine the role of the two members of HHVs on HIV-1 entry through oral epithelial cell monolayers.

Polarized oral epithelial cell monolayers were established. The tight junctions' integrity was evaluated by measurement of transepithelial electrical resistance, paracellular permeability and immunofluorescence assay. Transepithelial resistance (TER) measured with an epithelial Millicell-ERS voltohmmeter. Paracellular permeability was determined by measuring horseradish peroxidase (HRP) leakage assay. The paracellular penetration of HSV-1 through epithelial monolayers was determined by HSV infectivity assay on Vero cell monolayers. HSV-infected cells were visualized by immunofluorescence with an antibody specific for HSV-1 ICP4. Whereas, for determination of the penetration of HCMV through paracellular route, HCMV infectivity on human foreskin fibroblast (HFF) cells monolayer was done. Immunofluorescence assays were performed also to visualize gB expression as an indicator of HCMV-infected cells. In the reverse experiment, epithelial monolayers were exposed to HSV-1 and HCMV. The TZM-bl assay and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for HIV-1 p24 antigen were performed to evaluate the migration of HIV-1 through oral epithelial cell monolayers.

The results showed that both wild type-Tat and gp120 led to disrupt tight junctions (claudin-1, ZO-1, occludin), decreased TER, and increased paracellular permeability statistically significant ($p < 0.05$). Alteration in epithelial barrier permeability facilitated HSV-1 and HCMV to pass through paracellular space, significantly different when compared to mutant-Tat and gp120 heat inactivated group ($p < 0.05$). Similar data were obtained when epithelial monolayers treated with HIV-1 virion and UV-irradiated HIV-1, demonstrating alteration of epithelial barrier integrity and the number of paracellular passage of HSV-1 and HCMV, significantly different when compared to mock group ($p < 0.05$). The reverse experiments showed that epithelial damage induced by HSV-1 and HCMV allowing the number of HIV-1 migration statistically significant ($p < 0.05$) from the apical to the basal surface of oral epithelial cell monolayers.

In conclusions, HIV-1 protein (Tat and gp 120) and HIV-1 virions play an important role in the impairment of oral epithelial barrier integrity, and contribute to herpesviruses exposure through paracellular route, and vice versa that epithelial damage caused by the herpes virus may facilitate to HIV-1 entry. This study indicates a substantial relationship between herpesviruses and HIV-1 within polarized oral epithelial cell monolayers.

Key words: HCMV, HIV-1, HSV-1, tight junctions