

CARGA VIRAL EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO DE PACIENTES HEMOFILICOS HIV-1 POSITIVOS BAJO TRATAMIENTO CON HAART

MARCELO E. CORTI, MARIA F. VILLAFÑE, PATRICIA BARE, FERNANDA ALVES ROSA, MONICA CERMELJ,
MIGUEL CANDELA, RAUL PEREZ BIANCO, MIGUEL TEZANOS PINTO

*Fundación Argentina de la Hemofilia e Instituto de Investigaciones Hematológicas,
Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires*

Resumen Teniendo en cuenta que aquellos pacientes con infección por HIV-1 con cargas virales indetectables en el LCR presentan un menor riesgo de desarrollar enfermedad neurológica atribuible al retrovirus, la determinación de los niveles de HIV-RNA en el LCR puede ser de utilidad para evaluar la eficacia de la terapia antirretroviral de alta eficacia (HAART). Para tal fin, comparamos los niveles de carga viral en plasma y LCR en 18 pacientes hemofílicos, HIV positivos, que se encontraban recibiendo distintos esquemas de HAART y que no presentaban compromiso neurocognitivo en el momento de la realización del estudio. Comprobamos una significativa correlación entre los valores de carga viral en sangre y LCR. Todos los pacientes con cargas virales indetectables en plasma también tuvieron niveles de HIV-RNA no detectables en el LCR. Este hecho sugiere que los valores de carga viral en plasma serían extrapolables al LCR y suficientes para el monitoreo de los pacientes. La carga viral es generalmente más baja en aquellos fluidos diferentes de la sangre, y la HAART reduce la carga viral en el LCR tanto como en la sangre.

Palabras clave: carga viral en LCR, HIV, HAART, hemofilia

Abstract *Cerebrospinal fluid viral load in HIV-1 positive hemophilic patients treated with HAART.* As HIV seropositive patients with undetectable CSF viral load have a lower likelihood of developing neurologic disease, the determination of CSF viral load levels may be useful to evaluate the efficacy of HAART. We compared plasma viral load levels with HIV-1 RNA CSF levels in 18 hemophilic patients without neurocognitive involvement under HAART. We detected a significant correlation between plasma viral load levels and CSF viral load levels. Fourteen patients with undetectable plasma viral load had undetectable RNA HIV-1 CSF levels as well. Four patients with detectable plasma viral load had detectable HIV-RNA in CSF, but the latter were significantly lower. Viral load is usually lower in non-blood fluids and HAART decreases the viral load in CSF as well as in blood.

Key words: CSF viral load, HIV, HAART, hemophilia

La infección del sistema nervioso central (SNC) por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo-1 (HIV-1) provoca daño tisular que se acompaña de déficit neurocognitivo.

El hallazgo neuropatológico más importante es la infección productiva de los macrófagos derivados de la sangre, las células microgliales y las células gigantes multinucleadas. Las características clínicas de la demencia por HIV-1 sugieren daño o muerte celular de poblaciones neuronales seleccionadas. Las neuronas no son

infectadas por el HIV-1 y el número de células macrófago/microgliales infectadas es relativamente pequeño en relación con la marcada disfunción neurocognitiva. En consecuencia, es probable que existan neurotoxinas celulares y/o virales que alteren la función neuronal^{1, 2}. La producción de proteínas virales en el SNC puede interferir directamente con la transmisión neuronal o con los factores neurotróficos e indirectamente estas proteínas virales pueden activar la respuesta inmune a nivel del SNC. La activación inmune conduce a la producción de citoquinas y otras neurotoxinas solubles por los macrófagos, las células microgliales y los astrocitos. Finalmente, esta activación inmune masiva conduce a la disfunción y pérdida neuronal extensa³.

Con el creciente incremento en el número de fármacos antirretrovirales disponibles, la penetración de estas drogas en el cerebro y en el líquido cefalorraquídeo (LCR)

Recibido: 13-VI-2001

Aceptado: 15-VIII-2001

Dirección postal: Dr. Marcelo E. Corti, Fundación Argentina de la Hemofilia, Soler 3483, 1425 Buenos Aires, Argentina.
Fax: (54-11) 4963-1755 e-mail: marcelocorti@ciudad.com.ar

se ha convertido en un tema importante para la selección de los distintos esquemas terapéuticos⁴. La eficacia de los regímenes que incluyen múltiples drogas, incluyendo análogos de los nucleósidos, medida como una reducción de la carga viral a nivel del SNC, muestra resultados prometedores. Se ha demostrado que es posible reducir el número de copias de RNA-HIV en el LCR hasta niveles indetectables con regímenes de drogas antirretrovirales de alta eficacia (HAART por sus siglas en inglés) que logran alcanzar buenas concentraciones en el SNC. Si bien todavía no está totalmente establecido si la carga viral en el LCR refleja la carga viral dentro del parénquima cerebral durante los estadios tempranos de la infección por HIV, se comprobó que la carga viral en el LCR se correlaciona con la carga viral en el parénquima cerebral en pacientes con demencia por HIV⁵. Dado que la carga viral dentro del LCR y del compartimiento plasmático a menudo no se correlacionan, una falta de respuesta dentro del SNC junto con una buena respuesta plasmática, con frecuencia llamada "escape del SNC", puede ser posible y ha sido descrita³. De esta manera, la medición de la carga viral en el LCR puede convertirse en un elemento importante para el seguimiento de pacientes con cargas virales indetectables en plasma con el fin de comprobar si realmente ocurrió una respuesta adecuada a nivel del SNC.

Efectuamos la medición de los niveles de HIV-1 RNA en el LCR de 18 pacientes hemofílicos que se encontraban recibiendo diferentes esquemas de HAART y los comparamos con los valores obtenidos en el plasma.

Material y métodos

En el período comprendido entre junio y diciembre de 2000, se obtuvieron muestras de plasma y LCR de 18 pacientes hemofílicos, HIV positivos, bajo tratamiento antirretroviral de alta eficacia (HAART), para medir y comparar los niveles de carga viral en ambos fluidos. Todos los pacientes eran asintomáticos desde el punto de vista neurológico en el momento del estudio. Los sujetos incluidos en la evaluación se encontraban recibiendo esquemas de terapia antirretroviral que contenían dos inhibidores de la transcriptasa reversa análogos de los nucleósidos (ITRN) más un inhibidor de la proteasa (IP) (12 pacientes); dos ITRN más un inhibidor de la transcriptasa reversa no análogo de los nucleósidos (ITRNN) (2 enfermos); dos ITRN más dos IP (1 sujeto); dos ITRN más un ITRNN más un IP (1 caso). Un sujeto recibía biterapia con 2 ITRN y uno no recibía tratamiento por no tener indicación para el mismo de acuerdo con las pautas vigentes.

De los pacientes que se encontraban bajo tratamiento con esquemas que contenían IP, 5 recibían indinavir (IDV), en un caso asociado a ritonavir (RIT), y 9 nelfinavir (NFV).

Los tres pacientes con esquemas que contenían ITRNN recibían nevirapina (NVP).

Para medir la carga viral en ambos fluidos se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa ultrasensible (PCR-US/Amplicor HIV Ultrasensitive Assay). Los sujetos incluidos en la investigación firmaron el correspondiente consentimiento autorizando la realización del estudio.

Resultados

Catorce pacientes tuvieron cargas virales indetectables en plasma con niveles < 50 copias de HIV-RNA/ml; los 4 restantes, presentaban cargas virales detectables con valores que variaron entre 10.018 copias/ml y 426.950 copias/ml (media 255.845 copias/ml, $\log_{10} = 5.40$). La media del recuento de linfocitos T CD4 + al momento de la punción lumbar fue de 519 células/mm³ para los pacientes con carga viral indetectable en plasma y de 188 células/mm³ para aquellos con niveles plasmáticos detectables de HIV-RNA.

Todos los pacientes estudiados que tuvieron cargas virales indetectables en plasma también presentaron niveles indetectables de HIV-RNA en el LCR; los 4 enfermos con niveles detectables de carga viral plasmática tuvieron cargas virales detectables en el LCR, pero con valores significativamente inferiores a los plasmáticos. Los niveles de HIV-RNA en el LCR de estos 4 pacientes oscilaron entre 199 copias/ml y 1530 copias/ml (media para los pacientes con carga viral detectable en LCR (649 copias/ml $\log_{10} = 2.60$).

De los 14 pacientes con cargas virales indetectables en plasma y LCR, 11 (78%) se encontraban recibiendo esquemas que incluían IP (4 con IDV y 7 con NFV); de los 3 restantes, uno no recibía tratamiento, otro tenía indicado un esquema que incluía 2 ITRN más un ITRNN y el tercero se encontraba bajo tratamiento con 2 fármacos del grupo de los ITRN (AZT + 3TC).

Discusión

La infección por el HIV-1 se acompaña de enfermedad neurológica atribuible al retrovirus en el 31% de los pacientes infectados y de demencia en el 66% de los sujetos con SIDA⁶. El mecanismo de entrada del retrovirus al SNC no está aún claramente establecido. La mayoría de las células infectadas son de la línea macrófago-monocítica y se considera que estas células son los principales vehículos para la infección del SNC. Diversos estudios sugieren que los monocitos infectados transportan el HIV-1 desde la sangre, a través de la barrera hematoencefálica (BHE), hasta el LCR y, a partir de éste, se distribuye en el parénquima cerebral. Los monocitos inmunológicamente activados tienen mayor eficacia para atravesar la BHE en comparación con aquellos no estimulados. Estos monocitos activados expresan altos niveles de citoquinas proinflamatorias como el factor alfa de necrosis tumoral (TNF-alfa) y la interleuquina 10 (IL-10) que inducen expresión de células de adhesión endotelial en el cerebro⁷.

Diversos estudios muestran claras evidencias de que la infección del SNC ocurre tempranamente en el curso de la enfermedad y, si bien el HIV-1 puede ser detecta-

do en el parénquima cerebral durante la infección aguda, la replicación viral parece estar limitada en este reservorio en algunos pacientes^{8, 9}.

Varios autores señalan que podría haber un control inmunológico efectivo de la replicación viral durante la fase asintomática de la infección y, a medida que la enfermedad progresa y la inmunidad se deteriora, el control de la replicación viral se vuelve menos efectivo¹⁰.

El SNC y el compartimiento linfoideo/plasma parecen ser dos reservorios virológicos distintos; mientras que las cepas de HIV formadoras de sincicios (SI) se aíslan con frecuencia en muestras de sangre de pacientes con enfermedad HIV/SIDA avanzada, existen evidencias que sugieren que las cepas no formadoras de sincicios (NSI) son aquellas que penetran en el SNC y se asocian con los hallazgos neuropatológicos^{11, 12}.

El rol del SNC como "santuario" del HIV-1 tiene implicaciones diversas para el tratamiento. En este sentido resulta importante conocer el grado de penetración de los fármacos antirretrovirales en el cerebro y en el LCR. Los conocimientos sobre el pasaje de drogas a nivel del parénquima cerebral son aún limitados. La penetración de las drogas en el SNC se ve dificultada por la BHE y la hemato-meníngea. Es probable que la penetración en el SNC ocurra solo por difusión, porque no se han encontrado transportadores de drogas antirre-

trovirales^{3, 4}. Las drogas con una elevada unión a las proteínas plasmáticas, como por ejemplo la mayoría de los IP, no pueden atravesar estas barreras¹³.

Algunos estudios han demostrado que de los cinco IP actualmente incorporados a la terapia antirretroviral, solo el indinavir alcanzaría concentraciones útiles en el LCR^{14, 15, 16}; amprenavir también lograría concentraciones terapéuticas en este fluido, en tanto las restantes drogas de este grupo tendrían niveles indetectables^{13, 17}. Sin embargo, a pesar de estos resultados, muchos regímenes que contienen IP han logrado reducciones de la carga viral en LCR aun cuando no se los asoció con análogos de los nucleósidos¹³.

Un estudio reciente¹⁸ permitió comprobar que el uso de indinavir asociado con bajas dosis de ritonavir incrementa en forma significativa los niveles de indinavir en LCR.

En nuestra serie, el 78% de los pacientes (14/18) se encontraban recibiendo IP (IDV o NFV); 11 de estos 14 enfermos (78%) presentaron cargas virales indetectables tanto en plasma como en LCR.

Krivine A. y colaboradores detectaron cargas virales elevadas en el LCR de 22 pacientes con demencia asociada con el SIDA, por encima de $4 \log_{10}$ de HIV-RNA/ml y, en todos ellos, la carga viral en el LCR se correlacionó con el estadio del cuadro de deterioro cognitivo-motor

TABLA 1.— Cargas virales en plasma, LCR y esquemas terapéuticos en 18 pacientes hemofílicos HIV positivos

N°	Carga viral en plasma	Carga viral en LCR	Esquema terapéutico
1	ND*	ND	AZT+3TC+IDV
2	ND	ND	D4T+3TC+NFV
3	ND	ND	DDI+D4T+IDV
4	261.934 copias/ml	565 copias/ml	ABC+ddC+RIT+IDV
5	ND	ND	D4T+3TC+NFV
6	ND	ND	D4T+3TC+IDV
7	ND	ND	AZT+3TC
8	ND	ND	AZT+3TC+NVP
9	ND	ND	AZT+3TC+NFV
10	ND	ND	SIN TTO
11	ND	ND	AZT+3TC+IDV
12	ND	ND	AZT+3TC+NFV
13	10.018 copias/ml	199 copias/ml	D4T+3TC+NVP
14	ND	ND	D4T+3TC+NFV
15	324.480 copias/ml	304 copias/ml	AZT+3TC+NFV
16	ND	ND	D4T+3TC+NFV
17	426.950 copias/ml	1530 copias/ml	AZT+DDI+NVP+NFV
18	ND	ND	AZT+3TC+NFV

*ND: no detectable

relacionado con el retrovirus. En cambio, los mismos autores comprobaron que aquellos pacientes que se encontraban recibiendo HAART presentaron cargas virales bajas tanto en plasma como en LCR¹⁹. En nuestra evaluación también pudimos comprobar que aquellos pacientes con cargas virales indetectables en plasma y que se encontraban recibiendo esquemas de HAART, tuvieron niveles no detectables de HIV-RNA en el LCR. El denominado "fenómeno de escape" descrito por algunos autores³ no pudo ser detectado en nuestra serie y, de esta forma, la medición de la carga plasmática sería suficiente para el monitoreo de los pacientes.

Los niveles de carga viral resultan generalmente más bajos en aquellos fluidos diferentes a la sangre, como pudimos comprobar en los 4 pacientes de esta serie que tuvieron cargas virales detectables tanto en plasma como en el LCR.

Haas D. y col.²⁰ señalan que el ingreso continuo del HIV-1 en el LCR ocurre a diferentes tasas entre los sujetos infectados y que el reservorio que constituye el LCR deriva, al menos en parte, de otra fuente diferente del plasma.

Finalmente, y al igual que otros autores, consideramos que los regímenes terapéuticos más efectivos deben combinar fármacos que sean eficaces tanto para combatir la enfermedad HIV/SIDA sistémica como el compromiso neurológico. Este hecho resulta trascendente no sólo para prevenir y tratar las graves complicaciones neurológicas asociadas con la enfermedad, sino también para reducir el riesgo de reinfección sistémica a partir del SNC²¹. Podemos concluir afirmando que en este estudio comprobamos una fuerte correlación entre los niveles de carga viral para HIV-1 en el compartimiento plasmático y en el LCR, lo que sugiere, en principio, que los valores de carga viral en plasma podrían ser extrapolables al LCR y brindar una idea de los niveles de carga viral en este último fluido.

Bibliografía

- Epstein LG, Gendelman HE. Human immunodeficiency virus type-1 infection of the nervous system: pathogenetic mechanisms. *Ann Neurol* 1993; 33: 429-36.
- Lipton SA, Gendelman HE. Dementia associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332: 934-40.
- Portegies P. Demencia asociada al SIDA. En: Benetucci J. (eds). SIDA y enfermedades asociadas. 2nd ed. 2001; 503-11.
- Enting RH, Hoetelmans RMW, Lange JMA, Burger DM, Beijnen JH, Portegies P. Antiretroviral drugs and the central nervous system. *AIDS* 1998; 12: 1941-55.
- Foudraire NA, Hoetelmans RMW, Lange JMA, et al. Cerebrospinal fluid HIV-1 RNA and drug concentrations after treatment with lamivudine plus zidovudine or stavudine. *Lancet* 1998; 351: 1547-51.
- Centers for Diseases Control and Prevention. Update: trends in AIDS incidence 1996. *MMWR* 1997; 46: 861-7.
- Nottet HS, Peridsky Y, Sasseville VG, et al. Mechanism for transendothelial migration of HIV infected monocytes into the brain. *J Immunol* 1996; 156: 1284-95.
- Shares LR. Pathology of HIV infection of the central nervous system: a review. *J Neuropathol Exper Pathol* 1992; 51: 3-11.
- Resnick L, Berger JR, Shapshak P, Tourtellotte WW. Early penetration of blood brain barrier by HIV. *Neurology* 1998; 38: 9-14.
- Marshall DW, Brey RL, Cahill WT, Houk RW, Zajac RA, Boswell RN. Spectrum of cerebrospinal fluid findings in various stages of human immunodeficiency virus infection. *Arch Neurol* 1998; 45: 954-8.
- Sonneborg A, Johansson B, Strammegard O. Detection of HIV-RNA and infectious virus in cerebrospinal fluid. *AIDS Res Human Retrov* 1991; 7: 309-73.
- Coffin JM. HIV viral dynamics. *AIDS* 1996; 10: 75-84.
- Kravcik S, Gallicano K, Roth V, et al. Cerebrospinal fluid HIV-RNA and drug levels with combination ritonavir and saquinavir. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999; 21: 371-5.
- Brinkman K, Kroon F, Hugen PW, Burger DM. Therapeutic concentrations of indinavir in cerebrospinal fluid of HIV-1 infected patients. *AIDS* 1998; 12: 537.
- Martin C, Sonnerborg A, Svensson JO, Stahle L. Indinavir-based treatment of HIV-1 infected patients: efficacy in the central nervous system. *AIDS* 1999; 13: 1227-32.
- Letendre SL, Caparelli EV, Ellis RJ, McCutchan JA. Indinavir pharmacokinetics in plasma and cerebrospinal fluid. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2173-5.
- Aweeka F, Jayewardene A, Staprans S, et al. Failure to detect nelfinavir in the cerebrospinal fluid of HIV-1 infected patients with and without AIDS dementia complex. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviral* 1999; 20: 39-43.
- Van Praag RE, Weverling GJ, Portegies P, et al. Enhanced penetration of indinavir in cerebrospinal fluid after addition of low dose of ritonavir. *AIDS* 2000; 14: 1187-94.
- Krivine A, Force G, Servan J, et al. Measuring HIV-1 RNA and interferon-alpha in cerebrospinal fluid of AIDS patients: insights into the pathogenesis of AIDS dementia complex. *J Neurovirol* 1999; 5: 500-6.
- Haas DW, Clough LA, Johnson BW, et al. Evidence of a source of HIV type-1 within the central nervous system by ultrasensitive sampling of cerebrospinal fluid and plasma. *AIDS Res Hum Retrovir* 2000; 16: 1491-502.
- Pewer C, Johnson RT. HIV associated dementia: clinical features and pathogenesis. *Can J Neurol Sci* 1995; 22: 92-100.