

DIAGNÓSTICO

Potente respuesta de células T citotóxicas y débil de anticuerpos neutralizadores en un subconjunto de sujetos con infección estable no progresiva por VIH-1

Harrer T, Harrer E, Kalams SA, et al. Strong cytotoxic T cell and weak neutralizing antibody responses in a subset of persons with stable nonprogressing HIV type 1 infection. *AIDS Research and Human Retroviruses* 1996; 12: 585-592.

Algunos sujetos pertenecientes a grupos bien definidos llevan más de una década infectados por VIH-1 y permanecen todavía asintomáticos y con recuentos de CD4 normales.

Para determinar los parámetros virológicos e inmunológicos de estos sujetos se examinó a diez personas del Hospital Clínico de San Francisco que padecían la infección de forma documentada durante un período de once a quince años, y que mantenían recuentos estables de CD4 por encima de 500 células/μl.

Los resultados indicaban que los individuos en los que la enfermedad no ha progresado a largo plazo constituyen un grupo heterogéneo con respecto a la carga vírica y a la respuesta inmunitaria específica al VIH-1, y que la progresión puede darse incluso tras quince años de infección estable.

No obstante, en un subgrupo de personas con las menores cargas víricas e infección persistente no progresiva, se detectaron potentes respuestas de reacción citotóxica de los linfocitos (CTL), mientras que los estudios de anticuerpos neutralizadores revelaron títulos débiles o indetectables frente a un panel de diez aislados primarios.

Este estudio demuestra que una potente respuesta CTL específica del VIH-1 activada in vivo puede formar parte de la respuesta inmunitaria al huésped en la infección estable sin progresión, y que puede detectarse una CTL circulante activada al establecerse una carga vírica extremadamente baja. Estos resultados indican también que la infección por VIH-1 que no progresa a largo plazo, no requiere la presencia de anticuerpos neutralizadores que tengan una amplia reacción cruzada.

Todavía no se conoce con certeza el destino final de aquellas personas que presentan infecciones que no progresan. Sin embargo, su estudio nos permitirá aprender nuevas lecciones que harán posible la mejora de tratamientos para aquellas personas con una infección que progresa. El pasado año se publicaron tres artículos (N Engl J Med 1995; 332: 201-8, N Engl J Med 1995; 332: 209-16, N Engl J Med 1995; 332: 228-32) en los que se investigaba la posible relación entre la no progresión y una interacción virus-célula diferente.

El artículo de Harrer *et al* describe una dicotomía entre la respuesta inmune humoral y la celular en un grupo de pacientes sin progresión. Sus resultados indican que hay un subgrupo de no progresión estable que presentan una muy baja carga vírica y que pueden mantener una importante respuesta de linfocitos T citotóxicos, pero que muestran muy bajos niveles de anticuerpos neutralizantes. En este trabajo no se describen los factores que contribuyen a esta dicotomía, aunque una posible explicación es la lisis de las células infectadas antes de que sean capaces de expresar aquellos epitopos conformacionales necesarios para la maduración de la respuesta mediada por anticuerpos neutralizantes.

De este trabajo se desprende la idea de que la respuesta de anticuerpos neutralizantes no es necesaria para la no progresión de la infección, y que una respuesta importante de linfocitos T citotóxicos (CTL) puede contribuir al mantenimiento de una fase asintomática. Sin embargo, es importante resaltar que la progresión de la infección puede darse incluso en ausencia de actividad CTL importante. Factores como pueden ser la especificidad de la respuesta inmune así como su evolución pueden ser importantes para el curso de la infección y pueden contribuir a la heterogeneidad observada entre parámetros virológicos e inmunológicos tanto en este como en otros trabajos.

I. Nájera

Medical Research Council.
Cambridge. Reino Unido.

El subtipo E de Tailandia del VIH-1 predomina en Vietnam del Sur

Menu E, Xuan Lien TT, Lafon M-E, et al. HIV type 1 thai subtype E is predominant in South Vietnam. *AIDS Research and human retroviruses* 1996; 12: 629-633.

En el sudeste asiático ha surgido un tipo de epidemia por infección del VIH-1 que evoluciona con extraordinaria rapidez. Se han detectado dos subtipos diferentes del VIH-1 en Tailandia, los subtipos B y E, el primero relacionado con infecciones de transmisión sexual y el segundo con prácticas de drogadicción. La pandemia en Vietnam ha sido introducida con posterioridad, procedente en gran medida de Tailandia. En el presente trabajo se analiza la distribución de subtipos B y E en Vietnam, encontrando un predominio casi exclusivo del subtipo E.

Los primeros casos de infección por el VIH-1 en Vietnam datan de 1990, y hasta diciembre de 1994 había descritos 2.283 casos, en su mayoría registrados en la capital Saigón (Ho Chi Min Ville), la ciudad más poblada del país. Se sospecha, sin

embargo, que la pandemia progresa a una velocidad inquietante entre drogadictos y mujeres que trabajan en la prostitución, y que los nuevos casos proceden en su mayoría de la vecina Tailandia, donde la pandemia se inició por los subtipos B y E, pero en donde el E se ha mostrado más invasivo. En este trabajo se caracterizan los subtipos de 50 casos de vietnamitas infectados por VIH-1, agrupados según los autores en 32 infectados por inyección de drogas, y 18 infectados por contactos sexuales. Para cada caso se realizó una extracción de ácidos nucleicos seguida de una amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región del gen *env* que codifica por los bucles de variabilidad V3-V5. La caracterización de subtipos se realizó mediante las técnicas de amplificación por PCR y de movilidad de heterodúplex en geles (HMA). Sólo en cuatro de los casos estudiados se realizaron, asimismo, estudios de secuenciación de la región V3, y de comparación con secuencias consenso para los subtipos A al F.

Los resultados indicaron claramente que en Vietnam predomina el subtipo E en cada una de las seis áreas geográficas seleccionadas. Sólo se encontró un caso de subtipo B en una mujer residente en la capital, que había sido infectada por relaciones sexuales con europeos. El subtipo E predominó tanto entre drogadictos como en la transmisión heterosexual.

Este mismo resultado de un subtipo E como único virus que se extiende en Vietnam tanto entre los que explotan el comercio del sexo como entre los drogodependientes ha sido descrito recientemente por Nerurkar *et al*. En la comparación de secuencias que realizan estos autores con los virus amplificados se observa una gran semejanza con las cepas del subtipo E que circulan en Tailandia.

Por estos datos no se puede afirmar que el subtipo E sea más agresivo que el B, pero sí que es el más invasivo. El fenotipo del subtipo E probablemente corresponde a un fenotipo de virus macrofagotrópico y no inductor de sincitios.

Otro estudio reciente realizado por Carr *et al* concluye que el subtipo E tiene una estructura en mosaico, derivada de una gran capacidad de recombinación entre las poblaciones de virus que se entremezclan en una infección *in vivo*. En el estudio de Carr *et al* se describe la secuencia completa de un virus del subtipo E. Su envoltura externa es del subtipo E, y en ella es muy característica la secuencia de aminoácidos GPGQ en el bucle V3 de la glucoproteína gp120. Pero la envoltura interna del virus (glucoproteína gp41) así como las proteínas del core que derivan del gen *gag* corresponden al subtipo A. Estos resultados indican una gran capacidad de recombinación de las poblaciones víricas como mecanismo de adaptación rápida al entorno que más le conviene, o como mecanismo de escape a la presión inmune.

Se necesita en definitiva una intensa vigilancia epidemiológica en los países de riesgo de difusión incontrolada de la pandemia, al objeto de mejor caracterizar los factores que contribuyen a una mayor rapidez en la transmisión.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nerurkar VR, Nguyen HT, Dashwood WM, et al. HIV type 1 subtype E in commercial sex workers and injection drug users in Southern Vietnam. *AIDS Res HUM Retr* 1996; 12: 841-843.
2. Carr JK, Salminen MO, Koch C, Gotte D, et al. Full-length sequence and mosaic structure of a human immunodeficiency virus type 1 isolate from Thailand. *J Virol* 1996; 70: 5.935-5.943.

L. Medrano Soria

Centro Nacional de Biología Celular y Retrovirus (CNBCR).
Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Evaluación comparativa de los siguientes métodos de cuantificación del ARN del VIH-1 en plasma: NASBA HIV-1 RNA QT, AMPLICOR-HIV Monitor y QUANTIPLEX HIV RNA

Revets H, Marissens D, De Wit S, et al. Comparative evaluation of NASBA HIV-1 RNA QT, AMPLICOR-HIV Monitor, and QUANTIPLEX HIV RNA assay, three methods for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *Journal of Clinical Microbiology* 1996; 34: 1.058-1.064.

Se evaluaron tres métodos comerciales de análisis para la cuantificación del ARN plasmático del VIH-1. Los métodos diferían entre sí en los volúmenes necesarios para la muestra, la manera de preparar la misma y en las distintas formas de amplificación y detección.

Las muestras de plasma procedían de 36 pacientes infectados por VIH-1 que representaban todos los distintos estadios de la infección, a los que se les asignó un código para que el análisis fuese anónimo. También se utilizaron estos análisis para cuantificar los niveles de ARN del VIH-1 en plasma de pacientes que estaban cambiando de tratamiento antirretrovírico. Los cambios en los niveles plasmáticos de ARN del VIH-1 obtenidos como resultado de la terapia eran similares con los tres métodos.

No se encontró correlación alguna entre la cantidad de ARN del VIH-1 y el recuento de células CD4+; los métodos basados en el ARN del VIH-1 se mostraron más sensibles que los del antígeno p24 como indicadores de viremia plasmática.

En conjunto, el estudio demuestra que los tres análisis cuantitativos del ARN del VIH-1 pueden utilizarse para determinar el número de copias de ARN del VIH-1, representativo del estatus de viremia de los pacientes con infección por VIH-1.

Puesto que este número de copias parece ser útil para monitorizar la eficacia del tratamiento antirretrovírico, estos análisis cuantitativos del ARN del VIH-1 pueden ya incorporarse a los ensayos clínicos.

Desde un punto de vista ideal, un equipo para la realización de análisis cuantitativos de la actividad vírica debe reunir una serie de condiciones como la sensibilidad, la especificidad, la flexibilidad técnica y la adaptabilidad. En la práctica hay que tener en cuenta otros factores como el volumen imprescindible de muestra, el costo, el tiempo necesario para realizar el trabajo y la facilidad de realización que habrá que exigir según determinadas circunstancias.

Teniendo en cuenta algunos de estos factores, los autores han hecho una valoración de los tres equipos más usados en la cuantificación de ARN en plasma. Para ello han estudiado 36 pacientes infectados por VIH en diversos estadios más otros 17 a los que se les había cambiado el tratamiento del agente antirretrovírico.

Encuentran que las tres técnicas son equiparables en lo que respecta a los principales parámetros, aunque se pueden hacer algunas consideraciones. Teniendo en cuenta la metodología empleada hay que tener en cuenta que el Quantiplex usa un marcador externo y por tanto puede ser

menos significativo de lo que ha pasado en la reacción. Por otro lado, en este método se emplea para la determinación de la cantidad de ARN una ampliación de la señal luminosa en vez de la del ácido nucleico, por lo que pequeñas variaciones en la extracción o en la purificación pueden dar lugar a desviaciones importantes del resultado.

Según los autores, el límite inferior de sensibilidad sería de 200 copias por ml para el Amplicor, 4.000 para el NASBA y 10.000 equivalentes por ml para el Quantiplex, diferencias que no son relevantes, pero hay que hacer notar que en el caso del NASBA no está bien expresado, porque de acuerdo con el método la sensibilidad del NASBA es de 400 copias por volumen de muestra empleado.

Los autores también hacen un estudio de la reproductividad del NASBA empleando tres laboratorios diferentes. Comprueban que en ningún caso la desviación de los resultados es superior a 0,25 log. Ya se había comprobado en otros trabajos para el caso del Amplicor¹ y el Quantiplex² en los que también se demuestra que es buena.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mulder JN, McKinney C, Christopherson J, et al. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J Clin Microbiol* 1996; 32: 292-300.
2. Pachl CJA, Todd DG, Kern PJ, et al. Rapid and precise quantification of HIV-1 RNA in plasma using a branched DNA signal amplification assay. *J of AIDS* 8: 446-454.

G. Contreras Carrasco

Centro Nacional de Biología Celular y Retrovirus (CNBCR).
Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Uso clínico de los métodos moleculares cuantitativos en el estudio de la infección por el VIH-1

Clementi M, Menzo S, Bagnarelli P, et al. Clinical use of quantitative molecular methods in studying human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 135-147.

La peculiar biología del VIH-1 dificulta la comprensión de la relación que pueda existir entre la actividad del virus y la enfermedad, así como con su progresión. El concepto de latencia que se tenía, apoyado en otros sistemas víricos de que el virus permanecía inactivo desde la finalización de la fase aguda hasta los últimos estadios de la enfermedad ha tenido que cuestionarse y redefinirse al haberse comprobado que, durante todo el tiempo, se puede detectar una gran actividad vírica demostrable por la presencia de productos de transcripción en las células mononucleares de sangre periférica, así como por la presencia de ARN en plasma libre de células. Esta actividad vírica puede detectarse, asimismo, en el tejido linfóide. Una mejor comprensión de este tipo de latencia requiere la aplicación de métodos cuantitativos que aclaren la dinámica de la enfermedad. En este artículo se hace un resumen de los métodos existentes junto con su aplicación clínica en la sistemática del estudio virológico de la infección por VIH-1.

En el estudio de la infección por VIH se han venido manejando una serie de parámetros como la cantidad de CD4 o de antígeno p-24 con el ánimo de saber la situación real en la que se encontraba la persona infectada, y para conocer el riesgo de progresión de la enfermedad en aquellos que se encuentran en período asintomático. En el momento actual se suma otra cuestión interesante, la de comprobar la eficacia de los tratamientos con los distintos antirretrovíricos o con las combinaciones que pueden realizarse.

No parece que se puedan tener datos precisos que permitan conocer la progresión de la enfermedad al comienzo de la infección. En la mayor parte de los pacientes, los valores de viremia plasmática alcanzan el máximo en los momentos de mayor actividad vírica, alrededor del millón de copias, si bien puede haber grandes variaciones entre los distintos pacientes. Otros valores como la cantidad de productos intracelulares de transcripción y el ADN provírico se mantienen paralelos a la viremia plasmática, aunque hay que hacer constar que los valores más altos se obtienen en aquellos pacientes en los que cursa con sintomatología y se produce un gran descenso de los linfocitos CD4. Por otro lado, sí parece existir una cierta correlación entre la rapidez en el descenso del número de copias de ARN en muestras de suero y la evolución de la enfermedad, siendo más rápida en aquellos pacientes en los que el número de copias permanece elevado, mientras que un descenso significativo observado durante los primeros momentos de la infección podría ser indicativo de no progresión o progresión lenta. Una vez iniciado el período de latencia, las cifras decaen drásticamente, aunque de forma muy variable de unos pacientes a otros, llegándose a alcanzar 200 copias de ARN por ml de plasma, y 100 copias de ADN por cada 100.000 células mononucleares de sangre periférica.

Muestran los parámetros de progresión en doce pacientes en los que encuentran un aumento paralelo del ARN en plasma, del provirus y de los productos de transcripción, al mismo tiempo que decaen los CD4, lo que puede ser demostrativo de que, aparte de la biología de los CD4 la muerte de estas células esté íntimamente ligada a la actividad vírica.

Para conocer los marcadores moleculares en los progresores lentos recurren a una búsqueda bibliográfica. Como era de esperar, encuentran que en estos pacientes, al mismo tiempo que no decaen los linfocitos CD4 no progresan estos parámetros y permanecen, en todos los casos, alrededor de diez veces por debajo de los valores que se obtienen en los que progresa la enfermedad.

Todos los trabajos demuestran que en la infección por VIH la actividad vírica está en claro balance con la muerte celular, poniéndose claramente de manifiesto cuando los ciclos de replicación del virus se ven bruscamente interrumpidos al instaurar un tratamiento con un potente agente antivírico. En estos casos se comprueba que la carga vírica decae y, en gran parte de los pacientes, los linfocitos CD4 aumentan. A pesar de la necesidad de disponer de estas técnicas, hay que tener en cuenta que los resultados que se obtienen por distintas técnicas no se correlacionan completamente. Sería de interés disponer de estándares internacionales para valorar los datos obtenidos. Por otro lado, las técnicas de preparación y purificación de los ácidos nucleicos no son fácilmente reproducibles en vistas a realizar una medida real. Sería de interés que se simplificaran con vistas a un uso más rutinario.

G. Contreras Carrasco

Centro Nacional de Biología Celular y Retrovirus (CNBCR).
Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
DE MADRID

Facultad de Educación



Instituto de Salud Carlos III

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO

Centro Nacional de Investigación Clínica
Servicio de Enfermedades Infecciosas
Instituto de Salud Carlos III

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO

MASTER EN SIDA

(Reconocido por la Comisión Europea. Programa Erasmus)

Madrid, enero-junio 1997; enero-junio 1998

Directores: M.^a V. Gordillo, J. González-Lahoz y V. Soriano

Para titulados superiores en Pedagogía, Medicina,
Psicología y otras disciplinas afines

INFORMACIÓN

Teléfonos 314 08 07 (Ext. 512) y 394 62 56
FAX: 733 66 14

PLAZO DE PRE-INSCRIPCIÓN

Del 15 de septiembre al 15 de octubre de 1996
Facultad de Educación. Universidad Complutense de Madrid

PLAZO DE MATRÍCULA

Del 15 al 30 de noviembre de 1996
Facultad de Educación. Universidad Complutense de Madrid

Becas de la Universidad Complutense de Madrid
y del Ministerio de Educación