

Răspuns discordant imunologic și virusologic la bolnavii cu infecție HIV sub tratament HAART

Predictive factors of discordant immunologic and virologic response to highly active antiretroviral therapy

Marta Andrea Fodor¹, Minodora Dobreanu¹, Rodica Pascu²

¹.U.M.F. Tg. Mureș, Laboratorul Clinic Central

².U.M.F. Tg. Mureș, Clinica de Boli Infecțioase I.

Rezumat

Scopul administrării tratamentului antiretroviral foarte activ (HAART – administrarea concomitentă a 2 INRT/NNRT + 1 - 2IP) constituie reducerea nivelelor plasmatice ale ARN-ului HIV plasmatic, reconstrucția imună – creșterea numărului limfocitelor CD4 și obținerea unei evoluții clinice favorabile.

Pe baza răspunsului imunologic și virusologic, bolnavii au fost împărțiți în patru grupuri: grupul cu răspuns complet (cu creșterea numărului limfocitelor CD4 și reducerea nivelelor ARN-ului HIV plasmatic – I+V+), grupul cu eșec terapeutic (scăderea numărului limfocitelor CD4 cu creșterea nivelelor ARN HIV plasmatic – I-V-), grupul discordant imunologic (scăderea ARN-ului HIV plasmatic cu scăderea concomitentă a numărului de limfocite CD4) și grupul cu răspuns discordant virusologic (creșterea ARN-ului HIV plasmatic concomitent cu creșterea numărului limfocitelor CD4).

Scopul acestui studiu a fost evaluarea frecvenței apariției răspunsului discordant imunologic și virusologic și identificarea posibilor factori asociați cu apariția acestuia.

Acest studiu a fost efectuat la Clinica de Boli Infecțioase Tg. Mureș. Lotul de studiu a fost constituit din 144 de bolnavi HIV pozitivi, cu vârsta cuprinsă între 7- 42 ani, aflați sub tratament HAART (2 INRT/INNRT + 1- 2 IP). Număratoarea limfocitelor CD4 s-a efectuat prin citometrie în flux cu triplu marcaj Becton- Dickinson, încărcătura virală a fost determinată prin tehnica PCR (LCx HIV-RNA Quantitative –Abbott și COBAS AMPLICOR HIV -1 MONITOR Test, v1.5).

Rezultate: am observat o largă distribuție a numărului limfocitelor CD4 și a încărcăturii virale, 26,38% din pacienți prezentând răspuns complet cu creșterea numărului limfocitelor CD4 și scăderea încărcăturii virale, 49,99% prezentând răspuns discordant, cel mai frecvent răspuns fiind răspunsul discordant virusologic (36,8%) cu creșterea concomitentă a încărcăturii virale și a numărului limfocitelor CD4.

Răspunsul discordant imunologic a fost mai frecvent observat la pacienții cu valori inițiale crescute ale limfocitelor CD4.

Am găsit diferență semnificativă statistic între numărul inițial al limfocitelor CD4 la bolnavii cu răspuns discordant imunologic (I-V+) și numărul inițial al limfocitelor CD4 la pacienții cu eșec terapeutic (I-V-). De asemenea am observat diferență semnificativă statistic între numărul inițial al limfocitelor CD4 la grupul cu răspuns optim la tratament (I+V+) și la cel cu eșec terapeutic (I-V-).

Abstract

The goals of highly active antiretroviral therapy (HAART - administration of 2 INRT/NNRT + 1 - 2IP) are the reduction of plasma HIV - RNA levels, the immune reconstitution - increase the number of CD4 cells and a favorable clinical outcome. On the basis of immunologic and virologic responses, patients have been classified into four groups: complete response (CD4 cell increase and plasma HIV - RNA level decrease -I+V+), complete nonresponse (CD4 cell decrease and plasma HIV - RNA increase -I-V-), immunologic response only (CD4 cell increase with plasma HIV - RNA level increase-I+V+) and virologic response only (plasma HIV - RNA level decrease without CD4 cell level increase-I-V+).

The objective of this study is to evaluate the frequency and possible predictive factors of discordant immunologic and virologic response.

This study has been performed in the Infectious Diseases Clinic in Tg. Mures. A lot of study has been formed by 144 HIV infected patients, olden 7-42 years, with HAART (2 INRT + 1 - 2 IP), with CD4 cell count and HIV RNA plasma level determination in the Molecular Biology Laboratory of the Infectious Diseases Clinic in Tg. Mures. CD4 cell count were assessed by flow cytometry (Becton Dickinson), virus load were measured with the use of commercial quantitative PCR technique (LCx HIV-RNA Quantitative -Abbott and COBAS AMPLICOR HIV -I MONITOR Test, v1.5).

Results: we observed a great distribution of CD4 cell/ plasma HIV - RNA levels; 26,38 % of patients had complete response with increase in CD4 cell count and decrease in viral plasma load, 49,99% had discordant response, the most frequent response (36,8%) the only immunologic response (increase the plasma viral load and both the CD4 cell count).

The immunological discordant response has been most frequent in the children with initially elevated CD4 cell counts.

We have found a statistically significant difference within the initially CD4 cell count in children with immunological discordant response (I-V+) and the initially CD4 cell count in the group of children with a treatment failure (I-V-). This difference was found both between the initially CD4 cell count in the group of children with a complete immunologically and virologically response (I+V+) and the group of children with treatment failure (I-V-).

Introducere

Combinatii de mai multe medicamente - terapia HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy - Tratamentul Antiretroviral Foarte Activ), care, prin definiție, înseamnă asocierea a cel puțin unui inhibitor de protează cu unul sau mai mulți analogi nucleozidici sau nenucleozidici ai revers transcriptazei, au schimbat semnificativ istoria naturală a infecției HIV atât la adulți cât și la copii. Numărul cazurilor de SIDA a scăzut considerabil în țările unde pacienții au acces la acest tratament combinat.(1).

În ciuda tuturor eforturilor depuse în vederea obținerii unui răspuns optim la tratament, un număr important de bolnavi prezintă răspuns discordant imunologic sau virusologic, adică creșterea numărului de limfocite CD4 paralel cu viremie persistentă (răspuns discordant virusologic) sau scăderea încărcăturii virale sub

nivel nedetectabil concomitent cu scăderea numărului de limfocite CD4 (răspuns discordant imunologic).

Eșecul terapeutic - creșterea încărcăturii virale cu scăderea numărului limfocitelor CD4 reprezintă o altă posibilitate - nedorită - de evoluție a bolii.

Frecvența răspunsului discordant imunologic și virusologic se consideră între 7% și 55% pentru răspunsul discordant imunologic, respectiv 19% și 45% pentru răspunsul discordant virusologic, în funcție de criteriile utilizate pentru definirea acestei varietăți de răspuns. (3).

Mecanismele care stau la baza apariției acestui răspuns discordant sunt actualmente insuficient elucidate, totuși, se consideră mecanisme care depind de organismul gazdă, mecanisme imune și factori virali.

Mecanismele care depind de organismul

gazdă:

- Răspuns CD8 crescut față de proteine *gag*;
- Răspuns anti-*gag* CD4 detectabil;
- Activitate supresoare noncitoitică crescută a limfocitelor CD8.

Mecanisme imune:

- Scăderea activării celulare și concomitent scăderea apoptozei induse de activarea celulară (4,9);
- Contribuția țesutului timic în reconstrucția imună.

Factori virali:

- Scăderea capacității replicative în cazul tulpinilor virale izolate din pacienți cu rezistență multiplă față de antiretrovirale, ceea ce înseamnă reducerea fitnessului viral. Mutații specifice care se asociază cu aceasta sunt mutația D30N, respectiv M36I (7) în protează, mutația M184I/V în revers transcriptază (3). În plus, aceasta presupune selectarea unor mutante virale defective cu capacitate redusă de a induce deficiență imună. (4,6,9,10).
- Scăderea efectului citopatic(4).
- Scăderea abilității mutantelor virale selectate sub acțiunea inhibitorilor de protează de a se replica în timus(4,9,10).
- Creșterea timpului de înjumătățire a limfocitelor CD4- datorată reducerii apoptozei celulare(4).
- Tipul viral non-inductor de formare de sinciții (CCR5-tropic) are capacitate replicativă mult redusă față de tipul viral inductor de sinciții (CXCR4-tropic).

Rolul mecanismelor care depind de organismul gazdă:

- genotipul HLA;
- genotipul coreceptorilor.

Numeroase studii descriu la această categorie de bolnavi o supraviețuire îndelungată, răspuns imunologic favorabil și risc redus de evoluție spre SIDA.(3). Aceste observații sunt valabile în special în cazul bolnavilor care prezintă răspuns discordant virusologic, dar nici la cei care prezintă răspuns discordant imunologic nu se de-

scrie o evoluție clinică nefavorabilă, exceptând cazurile cu număr de limfocite CD4 care nu depășește 200 celule/μl (5).

Material și metodă

Am inclus în studiu toți pacienții cu infecție HIV, cu tratament ARV, aflați în evidența Clinicii de Boli Infecțioase I Tg. Mureș. La acest lot de bolnavi am urmărit următorii parametri:

- numărul limfocitelor CD4 și încărcătura virală în momentul începerii tratamentului;
- numărul limfocitelor CD4 și încărcătura virală, determinată cu ocazia vizitelor efectuate pentru prescrierea tratamentului ARV.

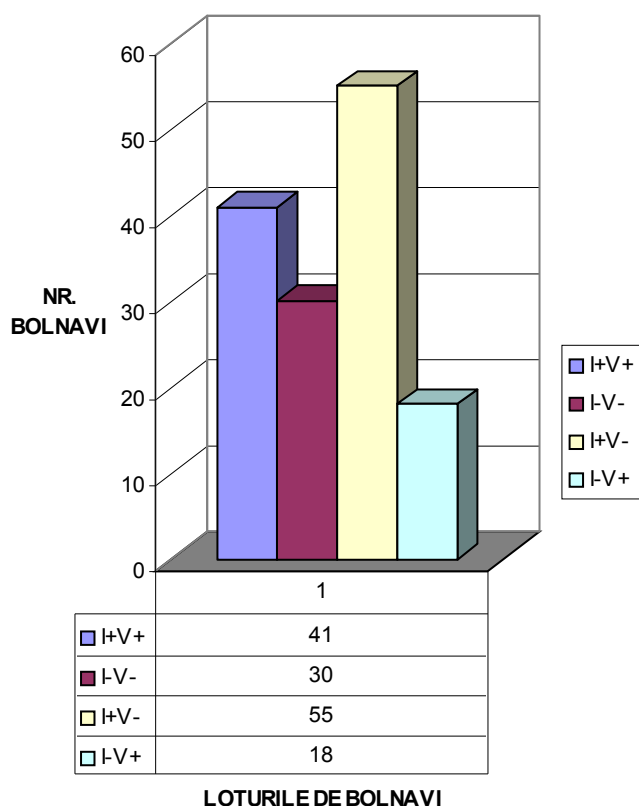
Numărătoarea limfocitelor CD4 s-a efectuat prin citometrie în flux cu triplu marcaj Becton-Dickinson. Încărcătura virală a fost determinată prin tehnica LCx HIV-RNA Quantitative (Abbott), respectiv prin COBAS AMPLICOR HIV-1 MONITOR™ Test, versiunea 1.5.

Scopul studiului a fost identificarea unor posibili factori asociați cu apariția răspunsului discordant imunologic și virusologic. Ca și posibili factori predictivi am urmărit numărul inițial de limfocite CD4, încărcătura virală inițială și numărul de antiretrovirale administrate.

Pacienții au fost împărțiți în 4 loturi, în funcție de evoluția imunologică și virusologică, astfel:

1. lotul cu răspuns imunologic și virusologic (I+V+) include pacienții care au prezentat
 - creștere a numărului de limfocite CD4 de cu minimum 100 de celule/μl de sânge față de valoarea inițială și
 - încărcătură virală sub limita de detecție (sub 400 de copii/ml) la sfârșitul studiului (4-9);
2. lotul cu răspuns discordant imunologic (I-V+) include pacienții care au prezentat
 - creștere a numărului de limfocite CD4 cu mai puțin de 100 celule/μl față de valoarea inițială sau scăderea acestui număr și

- încărcătură virală sub limita de detecție (sub 400 de copii/ml) la sfârșitul studiului (3-12);
3. lotul cu răspuns discordant virusologic (**I+V-**) include pacienții care au prezentat
- creștere a numărului de limfocite CD4 cu minimum 100 de celule/μl de sânge față de valoarea inițială și
 - încărcătură virală detectabilă (peste 400 copii/ml de sânge) (3-11);
4. lotul cu eșec terapeutic (**I-V-**) care include pacienții care prezintă
- creșterea numărului de limfocite CD4 cu mai puțin de 100 celule/μl față de valoarea inițială sau scăderea acestui număr și
 - încărcătură virală detectabilă (peste 400 copii/ml de sânge) (4-8,9,14).



Figură 1. Reprezentarea alocării bolnavilor în loturi în funcție de evoluție.

Rezultate

Am găsit următoarele rezultate: dintre cei 144 bolnavi incluși în studiu:

- 41 (28,47%) au prezentat răspuns optim la tratament (**I+V+**);
- 32 (22,22%) au prezentat eșec terapeutic (**I-V-**);
- 55 (38,19%) au prezentat răspuns discordant virusologic (**I+V-**);
- 16 (11,11%) au prezentat răspuns discordant imunologic (**I-V+**).

Valorile obținute pentru numărul inițial al limfocitelor CD4 și pentru încărcătura virală inițială la aceste loturi de bolnavi sunt redată în *Tabelul 1*.

Am comparat valorile inițiale ale numărului inițial al limfocitelor CD4, respectiv valoarea inițială a încărcăturii virale la aceste loturi de bolnavi, folosind testul t- student.

Am găsit diferență semnificativă statistic ($p < 0,05$) între:

- numărul inițial de limfocite CD4 la lotul cu răspuns discordant imunologic (427,3 cel/μl) și lotul cu eșec terapeutic (294,25 cel/μl),
- am observat un trend asemănător între lotul cu răspuns discordant imunologic și lotul cu răspuns optim la tratament (261,6 limfocite CD4/μl), fără a obține însă diferență semnificativă statistic.

Nu am observat diferență semnificativă statistic între numărul inițial al limfocitelor CD4 determinată la restul loturilor.

Nu am observat diferență semnificativă statistic între valoarea inițială a încărcăturii virale la cele patru loturi.

Continuând analiza pe subgrupurile de bolnavi, am obținut diferență statistic semnificativă între numărul inițial al limfocitelor CD4 la:

- grupul ARV NAIVI cu răspuns discordant imunologic (529,75 cel/μl) și grupul ARV NAIVI cu răspuns optim la tratament (163 cel/μl),
- grupul ARV NAIVI cu răspuns discordant imunologic și grupul ARN NAIVI cu eșec te-

LOTUL	CD4i (cel/ μ l)	Î.V.i (copii/ml)	NR. ARV
I+V+	261,6	724.511	6,02
I-V-	294,2	786.267	7,9
I-V+	427,3	711.220	5,9
I+V-	225,4	1.271.473	6

Tabel 1. Numărul inițial al limfocitelor CD4 și valoarea inițială a încărcăturii virale la cele patru loturi de bolnavi

rapeutic (118,3 cel/ μ l).

Am observat o scădere a numărului inițial al limfocitelor CD4 (243,9 cel/ μ l) la subgrupul HAART PRETRATAȚI cu răspuns discordant virusologic comparativ cu numărul inițial al limfocitelor CD4 (429,2 cel/ μ l) la subgrupul HAART PRETRATAȚI cu răspuns optim la tratament (429,2 cel/ μ l), fără a atinge însă pragul de semnificație statistică.

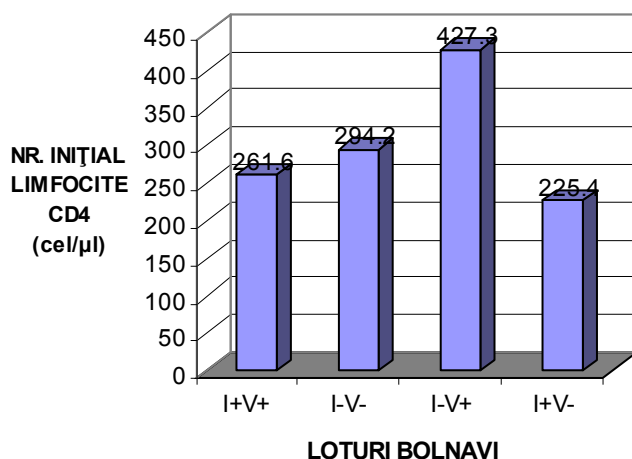
Nu am obținut diferențe semnificative statistice între valoarea inițială a încărcăturii virale la cele patru grupe și nici la subgrupele studiate.

Numărul antiretroviralelor administrate la subgrupurile de bolnavi naivi/pretratați sunt comparabile la toate cele patru loturi de bolnavi.

Concluzii

Pe baza acestor rezultate parțiale se poate afirma că:

- numărul inițial crescut al limfocitelor CD4 pare a fi asociat cu posibila apariție a răspunsului discordant imunologic;
- există posibilitatea asocierii răspunsului discordant virusologic cu un număr inițial scăzut al limfocitelor CD4 în comparație cu celelalte loturi;
- în acest studiu valoarea inițială a încărcăturii virale nu pare a fi asociată cu apariția oricărei dintre varietățile de răspuns discordant;



Figură 2. Numărul inițial al limfocitelor CD4 la cele patru loturi de bolnavi

Discuții

Acest studiu este un studiu descriptiv, în care am încercat a obține o imagine de ansamblu privind evoluția bolnavilor cu infecție HIV sub tratament ARV aflați în evidența Centrului Regional de Monitorizare al Infecției HIV/SIDA Mureș, această lucrare constituind un studiu preliminar efectuat în scopul elaborării tezei mele de doctorat.

Am prelucrat datele tuturor bolnavilor cu infecție HIV cu tratament ARV, aflați în evidența Centrului Regional de Monitorizare al Infecției HIV/SIDA Mureș. Din această cauză subgrupurile de bolnavi diferă mult între ele din punct de vedere numeric (subgrupuri cu 1, respectiv 32 bol-

navi incluși), ceea ce influențează evident comparabilitatea datelor și validitatea calculului efectuate.

Vârsta bolnavilor este în general cuprinsă între 16 și 18 ani, cu puține excepții, care sunt reprezentate de cei 4 adulți și cei 2 copii sub vârsta de 7 ani, aflați în evidența clinicii menționate anterior.

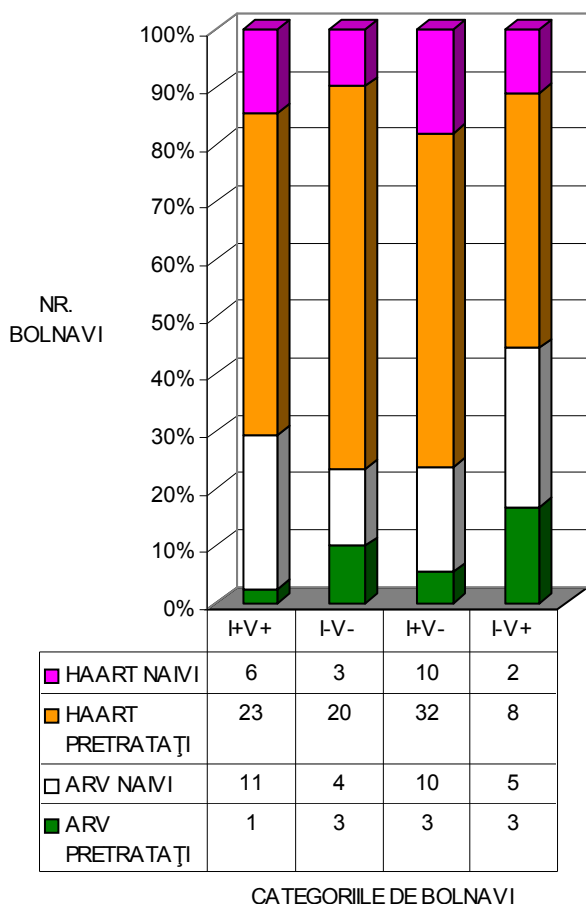
Există diferențe și în ceea ce privește vechimea tratamentului ARV, primii copii au început tratamentul ARV încă din anii 1995–1997. Acest aspect influențează evident schemele de tratament administrate la acești copii, pe

parcursul anilor înregistrându-se schimbări esențiale privitoare la schemele de tratament.

Criteriile de definire a loturilor de bolnavi (loturile cu răspuns optim la tratament, răspuns discordant imunologic, virusologic și eșec terapeutic) sunt de asemenea mult discutate în literatura de specialitate, diferite echipe folosind diferite criterii pentru identificarea acestor categorii de bolnavi.

Bibliografie

- Giacgunto C, D'Elia R, Giacomet V et al. Terapia infecției cu HIV la copil. In Giacgunto C, D'Elia R, Giacomet V eds. Educație Medicală Continuă, MEDKEIK, 2002.
- Sufka SA, Ferrari G, Gryszowka V et al: Prolonged CD4 cell/virus load discordance during treatment with protease inhibitor- based highly active antiretroviral therapy: immune response and viral control: J Infect Dis., 2003;187(7):1027-37.
- Grabar S, LeMoing V, Goujard C et al: Clinical outcome of patients with HIV-1 infection according to immunologic and virologic response after 6 months of highly active antiretroviral therapy. Ann Intern Med., 2000; 133(6):401-10.
- Picketty C, Weiss L, Thomas F et al: Long-term clinical outcome of Human Immunodeficiency Virus infected patients with discordant immunologic and virologic responses to a protease inhibitor containing regimen: J Infect Dis., 2001;183(9):1328-35.
- Sarmati L, Nicastrì E, Montano M et al: Decrease of replicative capacity of HIV isolates after genotypic guided change of therapy. J Med Virol. 2004 ;72(4):511-6.
- D' Ettore G, Forcina G, Andreotti M et al: Interleukin-15 production by monocyte- derived dendritic cells and T cell proliferation in HIV-infected patients with discordant response to highly active antiretroviral therapy: Clin Exp Immunol., 2004;135(2):280-5.
- Hawley-Foss N, Mbisa G, Lum JJ et al: Effect of cessation of highly active antiretroviral therapy during a discordant response: implications for scheduled therapeutic interruptions: Clin Infect Dis., 2001 ;33(3):344-8.



Figură 3. Alocarea bolnavilor în loturi în funcție de evoluție și tratamentul administrat.

12. Nicastrì E, Sarmati L, d' Ettore G et al: High prevalence of M184 mutation among patients with viroimmunologic discordant responses to highly active antiretroviral therapy and outcomes after change of therapy guided by genotypic analysis; J Clin Microbiol., 2003 ;41(7):3007-12.
13. Dronda F, Moreno S, Moreno A et al: Long-term outcomes among antiretroviral –naïve Human Immunodeficiency Virus infected patients with small increases in CD4 cell counts after successful virologic suppression: Clin Infect Dis., 2002;35(8):1005-9.
14. Torti C, Quiros-Roldan E, Scudeller L et al: Characterization of viro-immunological responses in a closely followed cohort of heavily pretreated patients: evidence from the GenPheRex Study, HIV Med. 2003 ;4(3):263-70.
15. Meynard JL, Guiguet M, Rachline A et al: Facteurs prédictifs de réponse virologique à un traitement antirétroviral avec inhibiteur de protéase au cours de l'infection à VIH. La Presse Médicale 2001;1: 5 – 10.
16. Veliquet V, Robillard N, Perré P et al: Réponse immunologique sous traitement antirétroviral associant stavudine, didanosine et névirapine. La Presse Médicale 2001; 23: 1143 – 1147.
17. Hoffmann C: Goals and Principles of Therapy In Hoffmann, Kamps eds: HIV Medicine 2003. Flying Publisher www.hivmedicine.com.
18. Djomand G, Roels T, Maran M et al: Virologic and immunologic outcomes and programmatic challenges of an antiretroviral treatment pilot project in Abidjan, Cote d'Ivoire. AIDS 2003; 17: S55-S15.