

Cuantificación de linfocitos T CD4+ y de RNA viral en pacientes con VIH/SIDA

Mirza Romero-Valdovinos,* Roberto Vázquez-Campuzano,* Cecilia Hirota, Mario Torres,* Fernando González,* Dolores Correa,* Ana Flisser*

Resumen

Se determinaron los valores de los marcadores de progresión (carga viral y cuenta de linfocitos T CD4+) de 410 pacientes que viven con VIH-SIDA, que estaban en diferentes etapas clínicas de la enfermedad y bajo diferentes esquemas terapéuticos. El objetivo fue determinar la correlación entre los valores de los marcadores de progresión y el estado clínico de los pacientes. Se utilizaron metodologías comerciales para cuantificar las subpoblaciones de linfocitos y el RNA viral circulante. Los resultados indican que existía correlación entre los valores de CD4+ bajos y la carga viral alta en pacientes que estaban bajo tratamiento antirretroviral pero no en pacientes sin tratamiento. Además el análisis de 1208 muestras procesadas durante 1999 mostró que el 46% de los pacientes tenían menos de 200 linfocitos T CD4+/μL de sangre y más de 500 copias de RNA circulante. Se discuten las implicaciones de estos resultados en la salud pública de México.

Palabras clave: CD4+, linfocitos, RNA viral, SIDA, VIH

El Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) es la instancia de la Secretaría de Salud responsable de realizar las pruebas de laboratorio para el diagnóstico etiológico de las enfermedades de importancia en salud pública. Entre las pruebas más solicitadas se encuentran la cuantificación de linfocitos T CD4+, CD8+ y CD3+ y la cuantificación del RNA circulante del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Esta gran demanda se debe a que es necesario eva-

Summary

Quantification of CD4+ T lymphocytes and viral RNA in patients with HIV/AIDS. Levels of progression markers (viral load and CD4+ T lymphocytes) in 410 patients with HIV/AIDS that were in different clinical stages of the disease and under different therapeutic schemes were quantified. The objective was to determine the correlation between values of progression markers and clinical stage of the patients. Commercial methodologies for the quantification of lymphocytes, subpopulations and circulating viral RNA were used. Results indicate that there was a correlation between low CD4+ values and high viral load in patients with antiretroviral treatment but not in patients without treatment. Furthermore, analysis of 1,208 samples processed during 1999 showed that 46% of the patients had less than 200 CD4+ T lymphocytes/mL blood and more than 500 copies of circulating viral RNA. Implications of these results in public health in Mexico are discussed.

Key words: AIDS, CD4+, HIV, lymphocytes, viral RNA

luar cuatrimestralmente el efecto del tratamiento antirretroviral en los enfermos con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) para detectar una posible resistencia del VIH a los fármacos utilizados.¹ Las técnicas recomendadas para tal efecto y, por lo tanto, para apoyar la predicción de la evolución clínica de la enfermedad son la cuantificación de linfocitos T CD4+ (CD4+) y la determinación de carga viral (CV).² La infección por VIH ocasiona una disminución severa de CD4+,

* Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE), SSA, Carpio 470, Col. Santo Tomás, México 11340 DF. Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dra. Ana Flisser, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Teléfono 56232466, e-mail: flisser@servidor.unam.mx.

la que se asocia a inmunosupresión y a la circulación de partículas virales.³ En general la infección por VIH cursa con altos niveles de viremia, aun en la fase de latencia. La tasa de producción del virus es un reflejo de la tasa de destrucción de los linfocitos T CD4+ y se sabe que personas que cursan con carga viral alta, aun con niveles semejantes de linfocitos T CD4+, tienen mayor mortalidad.⁴

En el Departamento de VIH y otras Infecciones de Transmisión Sexual del InDRE se realiza la cuantificación de linfocitos por citometría de flujo (FACS count, Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA) y la de partículas virales (Digene HIV RNA test Hybrid Capture II, Beltsville, MD) a partir de abril de 1999. La decisión de utilizar esta técnica para cuantificación viral, y no las otras tres existentes en el mercado (branch-DNA de Bayer, RT-PCR de Roche y amplificación isotér-

mica de Nasba) se debe a un estudio realizado previamente en el InDRE por el grupo de la M en C Carmen Soler, que no fue publicado, pero fue avalado institucionalmente. En resumen, este estudio indicó que no es posible realizar una correlación entre las cuatro técnicas, principalmente porque no existía un estándar de oro cuando se llevó a cabo dicha evaluación. Sin embargo, las cuatro técnicas dieron buenos resultados según los controles internos de las mismas y correlacionaron con las características clínicas de los pacientes de los que se usaron las muestras. La decisión de usar Hybrid Capture-II se debió a que resultaba la prueba más sencilla y que, al no requerir de la técnica de RT-PCR que se realizaba manualmente, existía menor probabilidad de contaminación interna en un laboratorio que de rutina maneja una gran cantidad de muestras.

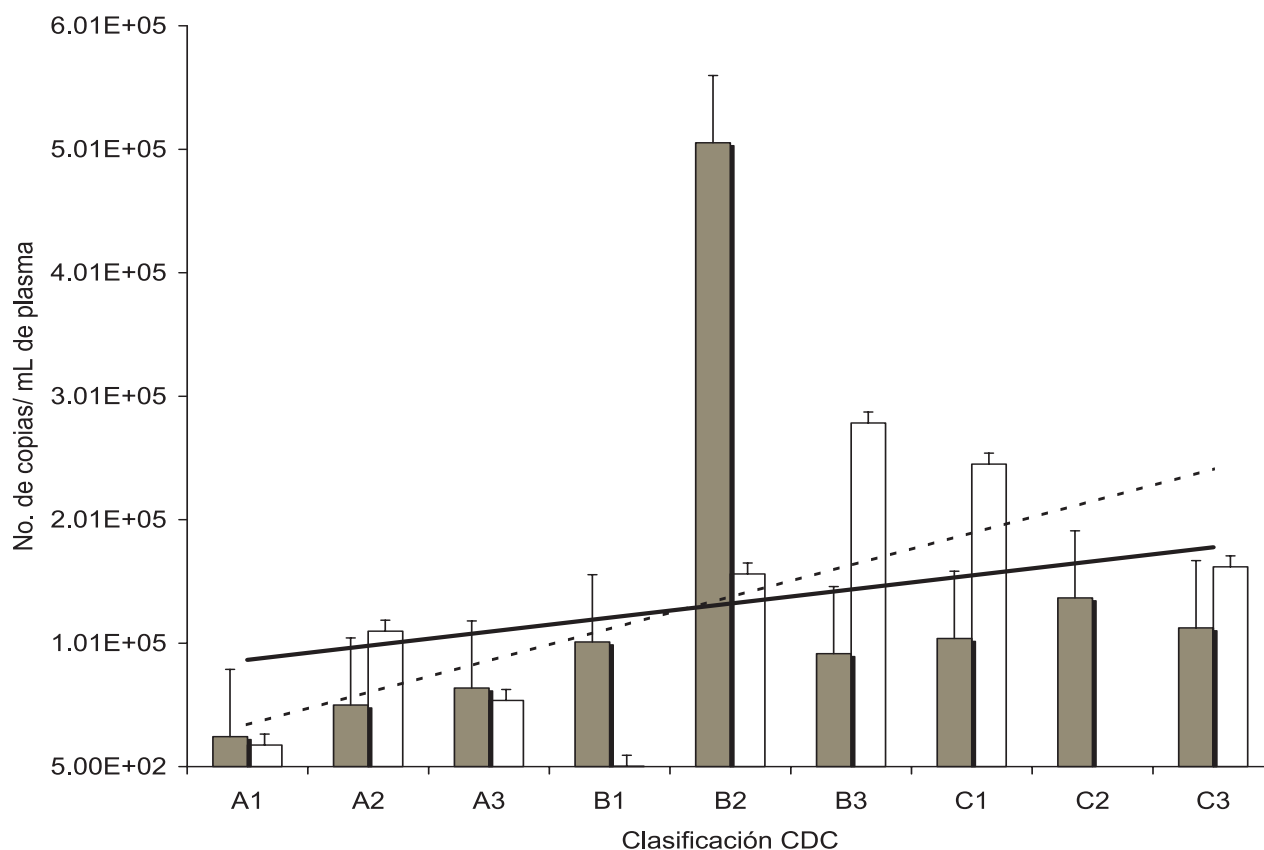


Figura 1. Valores de carga viral de los pacientes con VIH/SIDA distribuidos según clasificación de los CDC. Las barras blancas representan los datos de los 278 pacientes que estaban bajo tratamiento antirretroviral ($r = 0.737$, línea punteada) y las barras negras los datos de los 132 pacientes que estaban sin tratamiento antirretroviral ($r = 0.019$, línea continua).

Cuadro I. Información obtenida de las historias clínicas de enfermos con VIH/SIDA

Clasificación de los CDC	Número de pacientes	Promedio de edad	% de hombres	% de casos según el tiempo transcurrido desde el diagnóstico (años)			% de casos según el tratamiento recibido		
				- 5	>5	ND	AN	TE	ST
A1	66	26	56	70	12	18	8.3	3.7	5.6
A2	81	33	43	59	10	27	8.0	4.9	9.0
A3	53	32	67	64	8	28	6.3	2.7	5.1
B1	15	20	76	80	6	14	2.2	1.2	0.5
B2	54	30	45	72	4	24	7.3	2.9	2.7
B3	54	35	44	58	11	31	4.9	3.7	5.9
C1	4	35	34	75	0	25	0.2	0.2	0.5
C2	37	26	75	71	26	33	1.2	1.5	0.0
C3	46	33	32	72	9	20	3.9	4.6	2.9
TOTAL	410	30	52	69	10	21	42.4	25.4	32.2

ND No determinado

AN= tratamiento con análogos nucleótidos, TE= tratamiento con al menos un inhibidor de proteasas y análogos nucleótidos, ST= sin tratamiento.

Cuadro II. Correlación de los valores de linfocitos T CD4+ y carga viral de 1208 muestras analizadas en el InDRE durante 1999

CD4+ /μL de sangre	Carga viral (copias/mL de plasma)							
	<500		500-50,000		50,000-500,000		>500,000	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
>500	50	4.1	111	9.2	28	2.3	9	0.7
200-500	62	5.1	249	20.6	98	8.1	14	1.2
<200	24	2.0	261	21.6	254	21.0	48	4.0
Total	136	11.3	621	51.4	380	31.5	71	5.9

 $\chi^2 = 141.282$ para 6 grados de libertad, $p < 0.0001$.

En los siguientes 9 meses se obtuvieron 1208 muestras de sangre por venopunción en un tubo con EDTA y se cuantificaron subpoblaciones de linfocitos, además se separó el plasma, se centrifugó a 25500 g durante una hora para precipitar las partículas virales y se determinó la carga viral. Ambas técnicas se realizaron siguiendo estrictamente las indicaciones de las casas comerciales. Se obtuvo información clínica y terapéutica de 410 pacientes. La historia clínica se clasificó de acuerdo al criterio establecido por los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) que incluye 9 grupos que combinan letras y números: asintomáticos [A], con infecciones comunes [B], con infecciones oportunistas [C], con niveles normales de linfocitos T CD4+ [1], con 200-500 células /μL de sangre [2] o con menos de 200 células /μL [3]. La información terapéutica incluyó análogos nucleótidos y al menos un inhibidor de proteasas.

El cuadro I muestra la información de los 410 pacientes clasificados según el criterio de los CDC, así como la edad, el sexo, el tiempo de diagnóstico inicial y el tipo de tratamiento recibido. La edad promedio de los pacientes fue de 30 años (en un rango de 18 a 68 años) siendo la mitad de ellos hombres. El 69% había sido diagnosticado en los últimos 5 años. El 68% recibía tratamiento antirretroviral cuando fue tomada la muestra de sangre. La figura 1 muestra la correlación entre el número de copias de RNA circulante y el estado clínico según la clasificación de los CDC (que incluye el valor de linfocitos T CD4+) de los 278 pacientes que estaban bajo tratamiento antirretroviral y los 132 que no recibían tratamiento. El coeficiente de correlación (r Spearman) para pacientes con tratamiento fue de 0.737 mientras que para aquellos que no recibían tratamiento fue de 0.019. Las curvas muestran tendencias claramente diferentes entre los grupos, aunque la diferencia entre

ambos grupos no tuvo significancia estadística cuando se analizó por χ^2 . El cuadro II recopila los valores de carga viral en comparación con los de CD4+, tanto en número como en porcentaje, de las 1208 muestras analizadas. Como se puede ver el 47% de los pacientes tuvieron más de 500 copias de RNA/mL de plasma y menos de 200 linfocitos T CD4/mL de sangre, lo que indica que aproximadamente la mitad de los pacientes que se realizan las pruebas para predicción de la progresión hacia el SIDA tienen niveles de marcadores de progresión de alto riesgo.⁵ Se llevó a cabo un análisis de χ^2 de todos los datos del cuadro II y se obtuvo un valor de $p < 0.0001$, lo que confirma que hay una relación inversa entre y los valores de CD4+ y de carga viral.

Los resultados obtenidos en el análisis de las muestras de los enfermos con VIH/SIDA que acuden al InDRE indican que aunque una gran proporción se realizan los estudios en los primeros cinco años de la detección de la infección, la mitad de los pacientes ya tienen un proceso de inmunosupresión muy marcado y tienen RNA viral circulante en un amplio rango de valores. Esto sugiere que es necesario dar mayor promoción a la cuantificación de niveles de linfocitos T CD4+ y de RNA viral circulante en etapas tempranas de la infección por VIH, con el propósito de no llegar a condiciones tan malas de salud, como ha sido señalado anteriormen-

te.^{1,3} Por otro lado la correlación encontrada indica que la cuantificación de carga viral en individuos con VIH/SIDA es útil únicamente cuando el paciente está bajo tratamiento antirretroviral.

Agradecimientos: Al doctor Muslim Schabib del Hospital Regional "Gral. Ignacio Zaragoza" del ISSSTE y a las doctoras Patricia Uribe y Griselda Hernández del CONASIDA por la información clínica de algunos pacientes. Al doctor Simón Kawa del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" por las pruebas estadísticas.

Referencias

1. **Álvarez-Lucas C, Calva-Mercado JJ, Flisser A, Herminda C, Hernández G, Ortiz FJ, Pavia N, Ponce de León S, Rangel S, Sada E, Santos JI, Solórzano F, Soto JL, Soto LE, Uribe P, Vázquez R, Volkow P, Xochihua L.** Guía para la atención médica de pacientes con infecciones por VIH/SIDA en consulta externa y hospitales CONASIDA, SSA, México DF, 2000, 187 pp.
2. Revised classification system for HIV infection. MMWR. Center for Disease Control Atlanta GA, USA. 1992;41:RR-17.
3. **Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF.** HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease *Nature* 1993;362:355-358.
4. **Mellors JW, Rinaldo CR, Gupta P, White RM, Todd JA.** Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996;272:1167-1170.
5. **Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emini EA, Deutsch P, Lifson JD, Bonhoeffer S, Nowak MA, Hahn BH, Saag MS, Shaw GM.** Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117-122.