



ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL DE VIRUSOLOGIE "ȘTEFAN S. NICOLAU"

Complicațiile neurocognitive asociate infecției HIV

**Aspecte particulare la copiii și adolescenții
infecțați parenteral în copilărie**

Rezumatul tezei de doctorat

Coordonator:
Prof. Dr. Simona Maria Ruță

Doctorand:
Luminița Ene

București
2014

Lucrarea de doctorat își propune să analizeze complicațiile sistemului nervos central (SNC) la pacienții cu infecție HIV, din perspectiva modificărilor directe sau indirecte (secundare imunodepresiei) determinate de HIV. Studiul afectării neurocognitive a fost făcut pe un grup unic de pacienți cu infecție HIV transmisă parenteral în copilărie, în cursul epidemiei pediatrice de HIV din România de la începutul anilor 1990,¹ iar rezultatele legate de prevalența crescută și particularitățile complicațiilor neurologice legate de infecția HIV, la acest grup special de pacienți sunt originale și pot furniza o serie de informații deosebit de utile legate de influența HIV asupra creierului în dezvoltare.

Informațiile actuale legate de NeuroAIDS

HIV-1 invadează SNC încă din fazele inițiale ale infecției și determină la nivelul SNC o infecție autonomă, persistentă. Encefalopatia HIV (HIVE) apare ulterior în cursul infecției la indivizi care prezintă un anumit bagaj genetic (neurosusceptibilitate) și care sunt infectați cu tulpini neurotrope. HIVE este consecința distrucțiilor tisulare survenite în urma unui răspuns inflamator imun prelungit și slab controlat prin mecanisme compensatorii și al replicării HIV. Distrucțiile neuronale din HIVE nu se datorează infecției directe a neuronilor, ci efectului substanțelor proinflamatorii eliberate de macrofage și apoptozei controlate prin toxinele virale. Neurotropismul HIV reprezintă o caracteristică ce poate fi dependentă de subtip, de mutațiile survenite ca urmare a replicării într-un compartiment cu un bagaj limitat de mecanisme de apărare sau sub presiunea exercitată de doze subterapeutice de antiretrovirale. Evaluarea gradului afectării SNC la pacienții cu HIV se face pe baza unor markeri neuroimagingistici, virali, imunologici și neuronali.

Afectarea neurocognitivă legată de HIV necesită o definiție comprehensivă. La momentul actual se folosește termenul de NeuroAIDS, care include o paletă largă de complicații neurologice asociate infecției HIV, centrate pe disfuncția și degenerescența neuronilor de la nivelul SNC, ce poate determina o serie de simptome clinice ce include disfuncții cognitive, motorii, și comportamentale. Complicațiile neurologice asociate HIV includ două componente, și anume complicațiile neurologice secundare imunodepresiei care implică o serie de infecții oportuniste de SNC (leucoencefalopatie multifocală progresivă-PML, toxoplasmoza cerebrală-Toxo, meningoencefalită tuberculoasă MTB, meningoencefalită cu *Cryptococcus neoformans*- CNM, encefalită CMV-CMVE) sau neoplazii (limfomul primar cerebral) și pe de altă parte consecințele directe ale HIV asupra SNC.

Pentru evaluarea deficitului neurocognitiv legat de HIV se folosește în prezent termenul de HAND (HIV Associated Neurocognitive Disorders) în baza definiției de caz de la Frascati,² care include o componentă obiectivă neurocognitivă bazată pe evaluarea performanțelor în 7 domenii cognitive, o componentă legată de funcționalitatea pacientului în cadrul activităților cotidiene și excluderea altor condiții medicale. Având în vedere că pacienții cu infecție HIV trăiesc mai mult, și că afectarea neurocognitivă are o prevalență crescută, devine esențială identificarea deficitelor neurocognitive, mai ales în stadiile incipiente, pentru că acestea pot avea impact atât asupra aderenței la terapia antiretrovirală, cât și asupra calității vieții pacienților. Ca atare este esențial folosirea unui "limbaj" comun, care în prezent este cel al definițiilor de caz HAND. Având în vedere problematica complexă a evaluării neurocognitive și interferențele majore care pot afecta cele 3 arii care intervin în afectarea neurocognitivă (caracteristicile HIV, răspunsul imun al gazdei și co-morbiditățile), alegerea setului de teste pentru investigarea neurocognitivă în cadrul unui grup de pacienți cu infecție HIV ar trebui să răspundă unor întrebări specifice,³ și anume: dacă afectarea neurocognitivă diagnosticată se datorează direct HIV și nu este asociată cu alți factori/co-morbidități cum ar fi afecțiuni psihiatrice, deficite nutriționale, co-infecții. Determinarea impactului relativ al co-morbidităților este deosebit de dificilă, pentru că existența HIV în absența unor condiții asociate este rară.

Identificarea deficitelor neurocognitive reprezintă, din punctul de vedere al clinicianului care îngrijește un pacient cu infecție HIV, un pas intermediar pentru găsirea unui abord terapeutic optim care să vizeze ameliorarea acestor deficite. Alegerea acestei terapii trebuie să se adreseze mecanismelor neuropatogenice implicate în afectarea neurocognitivă. Un prim abord ar fi legat de terapia antiretrovirală care să determine controlul replicării HIV. Studiile clinice au arătat că cART ameliorează într-un anumit grad afectările neurocognitive.⁴ Aparentele beneficii ale cART sunt deconcertante în condițiile existenței unei slabe penetrări a acestora la nivelul SNC.

S-a descris o penetrabilitate diferită a medicamentelor antiretrovirale la nivelul SNC^{5,6} și actual se

prefigurează recomandarea folosirii medicamentelor antiretrovirale cu un scor crescut de penetrabilitate în SNC – așa-numita terapie NeurocART⁷ la pacienții cu afecțiuni ale SNC. Cu toate acestea cART nu este suficient pentru a controla HAD, dovadă fiind lipsa reversibilității demenței în prezența cART în unele cazuri, ca și apariția deficitelor neurocognitive la pacienții cu imunitate celulară bună.⁸ Una din explicațiile acestui eșec ar fi legată de persistența activării imune și a răspunsurilor inflamatorii cu efect în cascadă care conduc la apariția HAND.

Compartimentalizarea infecției HIV cu prezența unor diferențe genetice între tulpinile de HIV din plasmă și cele din LCR impune pe de o parte investigarea ARN HIV și a profilurilor de rezistență din ambele compartimente și pe de altă parte ajustarea schemei terapeutice în concordanță cu ambele rezultate. Dincolo de cunoașterea penetrabilității și mutațiilor de rezistență ale antiretroviralelor la nivelul SNC, evaluarea eficienței unui anumit regim cART trebuie să mai țină seama de existența afectării barierei hematoencefalice, de interacțiunile medicamentoase și de comorbidități.

Contribuția personală

Epidemia HIV din România a avut două particularități care o evidențiază între celelalte epidemii din Europa și anume este probabil cea mai mare epidemie pediatrică cu transmitere iatrogenă și că a avut drept cauză subtipul F. Datele colectate de la acest grup de pacienți pot răspunde unor întrebări științifice legate de istoria naturală a HIV, de patogenitatea/virulența unui anumit subtip (F), impactul pe termen lung al HIV și al terapiei antiretrovirale și perspectiva îmbatrânirii precoce. Afectarea sistemului nervos asociată infecției cu HIV continuă să suscite interes, în condițiile în care prevalența afectării neurocognitive (mai ales a celei ușoare și medii) dar și a unor infecții oportuniste rămâne crescută în perioada actuală. În acest context există un interes crescut pentru înțelegerea neuropatogenei HIV la nivelul SNC, a impactului terapiei antiretrovirale la acest nivel, nu doar din perspectiva eficienței dar și din perspectiva toxicităților ARV.

Lucrarea de doctorat își propune să acopere un deficit de informații legat de lipsa studiilor despre tulburările asociate infecției HIV la nivelul SNC la copii și adolescenți. Problematika impactului HIV asupra sistemului nervos central la acest grup populațional special a fost analizată din două perspective: pe de o parte ca efect direct asupra proceselor neurocognitive legate în exclusivitate de HIV, dar și din perspectiva HIV ca "facilitator" legat de inducția imunodepresiei și apariția de infecții oportuniste, dar și facilitator la nivelul SNC pentru reactivarea unor infecții latente. Ca urmare am abordat trei direcții mari de studiu: (1) cel retrospectiv privind evaluarea prevalenței și particularităților infecțiilor oportuniste ale sistemului nervos, (2) cel legat de posibilul caracter neurotrop al virusului hepatitic B (VHB) în contextul unei rate mari de coinfectiei HIV/VHB și cel (3) prospectiv legat de afectarea neurocognitivă asociată HIV la grupul de copii infectați parenteral în cursul epidemiei pediatrică din România, care în prezent sunt adulți tineri.

Obiectivele lucrării au fost:

1/ descrierea particularităților epidemiei HIV pediatrică din România, mai ales legat de aspectele filogenetice ale acesteia

2/ descrierea complicațiilor neurologice asociate imunodepresiei legate de HIV la copiii și adolescenții din Spitalul "Dr. Victor Babeș" din București, în principal a infecțiilor oportuniste de sistem nervos central și în plus a unei entități particulare pe care am denumit-o encefalită subacută mioclonică rujeoloasă

3/ evaluarea prezenței și posibilei compartimentalizări la nivelul SNC a infecției cu VHB la pacienții coinfectați HIV

4/ evaluarea deficitului neurocognitiv asociat HIV (HAND) la un grup de adolescenții și adulți tineri din Spitalul de Boli Infecțioase și Tropicale "Dr. Victor Babeș" din București folosind o baterie de teste neurocognitive validată internațional

Date legate de originea subtipului F1 din România la populația pediatrică

Epidemia HIV din România are anumite caracteristici: (1) calea de transmitere parenterală- nozocomială la un grup de copii născuți în perioada 1987-1990, care au primit îngrijiri medicale, incluzând sau nu transfuzii de sânge în primii ani de viață și (2) subtipul HIV prevalent este F1, diferit de celelalte subtipuri circulante în Europa. Au existat multă vreme neclarități legate de originea subtipului F și de modalitatea prin care acest subtip a ajuns și s-a răspândit mai ales în rândul populației pediatrice din România.

Primele studii de epidemiologie moleculară au legat subtipul F din România cu cel din Brazilia,⁹ însă raportări mai recente indică proveniența subtipului F din România din Angola.¹⁰ Nu era clar dacă epidemia din România a survenit ca urmare a unui eveniment unic (ipoteză susținută de diversitatea relativ redusă a HIV în cadrul epidemiei) sau ca rezultat a numeroase introduceri ale subtipului F de la populația română infectată prin intermediul produselor de sânge.¹¹ De aceea, am realizat o analiză a subtipului F1 din România în ceea ce privește proveniența și evoluția acestuia, folosind metode de filogeografie, în baza secvențelor HIV subtip F disponibile în baza de date Los Alamos National Laboratory (LANL) (www.hiv.lanl.gov), beneficiind de colaborarea cu o echipă de cercetători din San Diego, condusă de dr. Sanjay Mehta.¹³ Analiza secvențelor din România indică faptul că cel mai recent ancestor comun al secvențelor este datat în jurul anului 1978 (1972-1983), cu secvențe de la adulți și copii care se întrepătrund. Structura filogenetică a epidemiei cu subtipul F sugerează multiple introduceri ale acestuia provenind din epidemia din Angola. Având în vedere că datele istorice indică începutul epidemiei pediatrice la sfârșitul anilor 1980, timpul de la cel mai comun ancestor sugerează că infecția cu HIV la copii a fost rezultatul unor transmiteri succesive de la populația adultă a acelorași subtipuri, deja circulante în România.

După ce am avut o abordare din perspectiva consultării secvențelor HIV-1 subtip F al unei mari baze de date, am participat, în colaborare cu un grup de la Londra condus de Jean Mbisa, la un studiu bazat pe secvențierea a 67 de probe din România provenite de la pacienți infectați în copilărie în timpul epidemiei pediatrice din România.¹⁴ Probele de la pacienți au fost recoltate și analizate în baza unei colaborări internaționale cu PENTA-EPPICC (Paediatric European Network for Treatment of AIDS-European Pregnancy and Paediatric HIV Cohort Collaboration and the European Collaborative HIV and anti-HIV Drug Resistance Network (CHAIN). Ca și metodologie studiul a avut în vedere o analiză filodinamică și filogeografică a secvențelor de la copii la care existau date epidemiologice clare. A fost efectuată o secvențiere populațională a unei porțiuni a genei pol pe 176 de probe, recoltate în perioada 2002-2008 provenite de la copiii și adolescenți participanți la proiectele PENTA-EPPICC. Pentru a investiga legătura între secvențele studiate și restul secvențelor au fost descărcate 616 secvențe cu subtipul F1 și F2 din baza de date LANL. Secvențele descărcate proveneau din diferite regiuni geografice. Acolo unde existau mai multe secvențe disponibile de la același pacient, am folosit pentru analiză secvența cea mai recentă.

Rezultatele acestei analize pot fi sintetizate în 3 puncte. În primul rând susțin raportările anterioare legate de faptul că epidemia cu subtipul 1 din România este reprezentată de o populație de virusuri care au fost izolate de la copiii infectați cu HIV pe cale parenterală începând cu 1983, adică cu 5 ani anterior față de estimarea epidemiologilor.^{13,15} În al doilea rând am demonstrat că epidemia parenterală, după o creștere exponențială inițială, a rămas constantă. Aceasta sugerează că după 1990 s-au înregistrat foarte puține alte infecții parenterale, în parte deoarece la acea vârstă copiii nu puteau transmite infecția prin comportamente la risc și pe de altă parte deoarece au existat măsuri epidemiologice eficiente de stopare a epidemiei pediatrice după 1990. În al treilea rând, analiza filogeografică indică București ca și locație/rădăcină a epidemiei în 1980 în rândul populației adulte. Totuși teoretic ar fi fost posibil ca locația unora dintre secvențe să nu fi reprezentat sursa epidemiei pediatrice, deoarece unii dintre copii s-au mutat în România sau au plecat în străinătate după momentul achiziției HIV. De aceea am regăsit în subgrupul monofiletic trei probe din SUA, Germania și respectiv Austria. Totuși dat fiind numărul redus de probe aceste rezultate sunt preliminare, fiind necesară o analiză ulterioară pe un număr mai mare de secvențe de la adulți și copii din alte județe afectate din România pentru a obține o imagine clară din punct de vedere filogeografic, legată de originea și răspândirea HIV pediatric.

Complicații neurologice asociate infecției HIV la copiii și adolescenții din Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Dr. Victor Babeș" din București

Scopul acestui studiu este de a evalua complicațiile neurologice asociate HIV la o cohortă unică de copii cu infecție HIV subtip F transmisă parenteral. Infecția HIV s-a produs la populația pediatrică din România la începutul anilor 1990 pe cale parenterală, în general în primul an de viață. Coinfecția cu virusul hepatitic B este frecventă (40-60%) la acești copii, și a fost probabil transmisă în același timp cu infecția HIV¹⁶. Folosirea terapiei antiretrovirale (ART) a devenit accesibilă pe scară largă în România în ultimii 15 ani. De la apariția biterapiei antiretrovirale (1996) și cART (1999), statusul clinic al pacienților infectați HIV s-a ameliorat semnificativ, concomitent cu o scădere dramatică a mortalității și morbidității. Totuși, se observă o rată înaltă a complicațiilor neurologice legate de HIV în această populație de copii infectați parenteral. Ca urmare, am analizat prevalența și caracteristicile complicațiilor legate de HIV la cohorta de copii și adolescenți cu infecție HIV din Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Dr. Victor Babeș" din București, România. Am folosit ca și criterii de includere diagnosticul de encefalopatie HIV (HIVE) sau de infecție neurologică oportunistă (meningita cu *Cryptococcus neoformans*, encefalita CMV, leucoencefalopatia multifocală progresivă, toxoplasmoza cerebrală, meningita tuberculoasă, limfomul primar cerebral). Datele principale au fost colectate retrospectiv din baza de date locală (disponibilă din 1996) și din foile de observație ale pacienților. Au fost colectate următoarele informații: date demografice, data diagnosticului HIV, calea de transmitere a HIV, dinamica CD4+ și încărcăturile virale HIV, examenele lichidului cefalo-rahidian (LCR), neuroimagnostică (RMN cerebral), istoricul antiretroviral, examen histologic și/sau citologic, durata supraviețuirii. Am folosit un protocol de evaluare neurologică a pacienților cu infecție HIV elaborat în Clinică¹⁷. În plus, am inclus în analiză și o complicație neurologică particulară a rujeolei la copiii cu imunodepresie severă – encefalita subacută mioclonică rujeolică (SMME).

Rezultatele acestei evaluări retrospective indică o prevalență crescută a complicațiilor neurologice asociate HIV în cohorta unică de copii și adolescenți infectați parenteral din Spitalul "Dr. Victor Babeș". Aceasta este similară cu cea raportată la adulți.^{18,19} Surprinzător este faptul că la grupul nostru de copii și adolescenți rata acestor complicații tinde să crească în perioada post-cART. Există câteva explicații pentru această observație. Deși perioada de supraveghere a fost mai scurtă în perioada pre-cART (5 ani) față de perioada postcART (9.5 ani), numărul absolut de afecțiuni indicatoare SIDA a fost mai mare în perioada pre-cART, ceea ce indică în mod firesc o rată mai mare de afecțiuni severe legate de imunodepresie în lipsa unui tratament ARV eficient. Datorită îmbunătățirii sistemului social și de îngrijire medicală, în România condițiile non-neurologice sunt în declin. Totuși, există o serie de boli definitorii SIDA care par să fie mai frecvent diagnosticate la pacienții luați în studiu post-cART, cum ar fi PML, Toxo, TB extrapulmonară și CMV. Explicația acestei creșteri ar putea fi legată de accesul la tehnici neuroimagistice și de diagnostic molecular care au permis diagnosticarea cu acuratețe a mai multor condiții neurologice, mai ales a infecțiilor oportuniste NeuroAIDS. Prevalența generală de aproape 50% a afecțiunilor NeuroAIDS poate sugera o posibilă afinitate patogenică a subtipului F1 al HIV pentru complicațiile neurologice. Prevalența crescută a toxoplasmozei cerebrale, PML și CNM la copiii și adolescenții din spitalul nostru este unică și implică un mecanism de reactivare a unei infecții latente cronice, secundar imunodepresiei. Pe baza datelor publicate în literatura de limbă engleză, credem că este cea mai mare cohortă pediatrică cu PML și toxoplasmoză cerebrală descrisă până în prezent. Majoritatea pacienților cu complicații neurologice asociate HIV din cohorta noastră au infecție HIV avansată, cu niveluri scăzute ale CD4 și rate crescute ale mortalității. Cei mai mulți pacienți nu aveau cART la momentul complicațiilor neurologice, circa 20% fiind nou diagnosticați și ceilalți cu cART sistat (non-aderenți). Dacă presupunem, pe baza datelor neurologice, că au fost infectați la începutul anilor '90, complicațiile neurologice au apărut după 10-18 ani de infecție HIV cronică. Acest model evolutiv, cu o perioadă de infecție subclinică îndelungată, este asemănător adulților și nu copiilor, la care complicațiile neurologice (în principal HIVE) apar în primii ani de viață. Copiii infectați parenteral din cohorta noastră au avut o evoluție diferită față de copiii infectați vertical, pentru că au avut ocazia să își dezvolte propriul sistem imun și să răspundă eficient la infecțiile primare cu diferiți patogeni. Aceasta explică de ce în cursul infecției HIV ei dezvoltă infecții oportuniste cu acei patogeni care implică reactivarea unei infecții latente (abcese toxoplasmozice, PML, CMVE).

Evaluarea ARN HIV din LCR ca marker al afectării neurologice asociate infecției HIV la copii

Studiul impactului HIV asupra SNC a implicat și o abordare comparativă a ARN HIV din LCR și plasmă.²⁰ Această evaluare poate fi interpretată din două perspective: reflectă măsura în care LCR-ul este un marker al modificărilor corticale și în al doilea rând reflectă într-o oarecare măsură rolul sau impactul HIV în interacțiunea cu diverși agenți patogeni responsabili de infecțiile oportuniste. În sinteză rezultatele legate de studierea probelor pereche LCR-plasmă la grupul de copii cu infecție HIV transmisă în copilărie indică faptul că în ansamblu nivelurile de ARN HIV din LCR sunt mai reduse comparativ cu cele plasmatică, aspect constatat și de alți autori.²¹ Corelația încărcăturii HIV din LCR cu cea plasmatică indică faptul că în majoritatea cazurilor proveniența HIV din LCR este cea plasmatică.²²⁻²⁴ În cadrul evaluării noastre transecționale, am găsit 2 pattern-uri distincte, divergente asociate diferitelor afecțiuni: (1) Niveluri ale ARN HIV din LCR similare sau mai mari decât cele plasmatică la copiii și adolescenții cu HIV și meningita cu *C. neoformans* și (2) niveluri semnificativ reduse ale ARN HIV în LCR la pacienții cu PML și cu SMME.

La primul grup, explicațiile posibile sunt legate în cazul HIV de compartimentalizarea infecției HIV la nivelul SNC, care determină o sinteză autonomă a HIV. În această situație măsura replicării virale HIV corespunde afectării SNC, aspect descris și de alți autori la populația adultă,^{23,25-27} dar și la copii și adolescenți.^{28,29} Pe de altă parte, există date care atestă că la copii există o infecție cu HIV la nivelul unor neuroni,³⁰ aceasta putând contribui suplimentar la agravarea statusului neurocognitiv. Nu am putut analiza comparativ secvențele HIV din LCR și plasmă pentru a argumenta compartimentalizarea HIV în SNC, nici markerii inflamatorii din LCR și nici replicarea redusă a HIV-1 în LCR care indică nivelul inflamației și activării imune ce pot contribui în plus la modificările clinice.³¹

În ceea ce privește al doilea pattern, cu ARN HIV semnificativ redus în LCR față de nivelurile plasmatică aici am avut două situații: la pacienții cu PML, unde este posibil ca efectul inflamator redus determinat de JCV să nu determine modificarea BHE și ca atare migrarea ARN HIV din periferie în compartimentul SNC și a doua situație în care virusul rujeolos din SNC de la pacienții cu SMME să fi exercitat un efect inhibitor asupra HIV, interacțiune care a fost descrisă la nivel plasmatic,^{32,33} dar nu a mai fost descrisă până acum în LCR.

Date legate de encefalopatia HIV la cohorta "Victor Babeș"

HIVE a avut cea mai mare prevalență dintre condițiile neurologice definitorii de SIDA, și a fost diagnosticată la 119 din 559 copii cu boli definitorii SIDA (21.3%). Prevalența HIV în perioada pre-cART a fost 21.3% din bolile definitorii SIDA (70/33), versus 21.4% (49/229) în perioada postc-ART ($p=ns$). Diagnosticul de HIV a fost bazat pe definițiile de caz CDC pentru copii și adolescenți, și ca urmare a inclus copii și adolescenți cu forme severe de afectare neurocognitivă. Mediana vârstei la diagnosticul HIV a fost 11 ani, sugerând că afectarea neurocognitivă și motorie apare similar cu infecțiile oportuniste NeuroAIDS după un deceniu de infecție cronică HIV. În cazul cohortei studiate, alți factori care au contribuit la apariția encefalopatiei HIV ar fi imunodepresia severă, în condițiile lipsei cART (indisponibile înainte de 1999) și prezența altor boli definitorii SIDA. Afectarea motorie a fost prezentă la aproximativ o treime din copii cu HIV din cohorta SVB. Acest aspect este important din perspectiva similitudinii cu grupul de copii cu infecție verticală și HIV și poate fi explicat prin impactul HIV asupra proceselor de mielinizare și sinaptogenezei care au loc în copilărie³⁴. În ceea ce privește rezultatele de la testarea cu WISC, este de remarcat afectarea cognitivă semnificativă la grupul diagnosticat cu HIV. La grupul de copii cu HIV, valorile încărcăturii virale HIV au fost similare sau mai mari în LCR. Această observație este importantă mai ales din perspectiva utilizării ARN HIV din LCR ca biomarker pentru HIV și la copii, similar cu adulții.^{23,27}

Encefalita subacută mioclonică postrujeolă

În cadrul analizei complicațiilor neurologice legate de HIV, am inclus și o complicație particulară a rujeolei, pe care am numit-o encefalită subacută mioclonică rujeolică (**SMME**). Această condiție particulară a fost descrisă în cohorta noastră în cursul a două epidemii consecutive de rujeolă și a avut ca simptom clinic principal miocloniile. Având în vedere evoluția sa severă, relația cu imunodepresia severă și impactul epidemiologic, echipa dr. Duiculescu D., Ene L, și colaboratorii au sugerat includerea acestei entități între bolile definitorii SIDA.³⁵ Evaluarea pacienților cu SMME s-a făcut în baza unui protocol elaborat în cadrul Clinicii care a cuprins date epidemiologice legate de vaccinarea de rujeolă, dacă și cum s-a manifestat episodul de rujeolă acută, un examen neurologic detaliat, puncție lombară, examen RMN și EEG unde a fost posibil.

Datele ce susțin ipoteza că virusul rujeolic este agentul etiologic al acestei entități sunt: (1) contextul epidemiologic, (2) relația temporală între debutul miocloniilor și rujeola manifestată clinic la unii dintre ei cu 2-

10 luni anterior, (3) imunodepresia severă din cauza HIV și în final (4) punerea în evidență a virusului rujeolic în toate țesuturile cerebrale analizate. Unul din elementele cheie legate de SMME este imunodepresia severă prezentă la toți cei 34 de copii din cele două epidemii/grupuri. Majoritatea copiilor din cohorta pediatrică românească cu infecție HIV transmisă parenteral în primii ani de viață au fost vaccinați cu virus rujeolos atenuat. La momentul vaccinării aveau imunitatea celulară prezervată. Imunodepresia s-a instalat la acest grup special de pacienți după primii 7-10 ani de infecție cronică, similar cu adulții. Ipoteza pierderii clusterului de anticorpi antirujeolici după 10 ani de infecție cronică cu HIV este susținută de existența a două epidemii de rujeola anterior în 1992 și 1995. Din păcate toate eforturile de a izola virusul rujeolos din LCR la pacienții cu SMME au fost zadarnice. Pe de altă parte, virusul rujeolos a fost găsit în țesutul cerebral la toți cei 9 pacienți de la care au fost disponibile țesuturi necroptice cerebrale. În condițiile în care s-a izolat un virus similar celui circulant în cursul epidemiei din secrețiile faringiene a doi pacienți, am considerat fie că virusul din LCR era diferit de cel izolat din faringe și nu putea fi decelat cu primerii utilizați, fie că ar exista o serie de substanțe la nivelul LCR care ar exercita un efect inhibitor. Datele de imunocitochimie de la pacienții la care am avut disponibil țesut cerebral sugerează un pattern ascendent al infecției cu virusul rujeolos de la nivelul măduvei și răspândire prin cerebeli și în ultimă instanță și doar în anumite grade a substanței corticale. Surprinzătoare este afectarea neuroimagistică discretă, la grupul nostru de pacienți, cel puțin în fazele inițiale, uneori în discrepanță cu manifestările clinice. În concluzie, prezența miocloniilor și statusul mental păstrat la o persoană HIV pozitivă cu imunodepresie severă în timpul unei epidemii de rujeolă ar putea include encefalita subacută rujeoloasă în diagnosticul diferențial. Pe baza datelor noastre am propus această entitate ca o boală definitorie SIDA în țările cu resurse limitate. Sunt necesare eforturi suplimentare pentru a dezvolta o metodă de diagnostic molecular pentru a detecta virusul rujeolic în LCR. Prevenția imunodepresiei și tratamentul care se adresează replicării virusului rujeolic în creier sunt necesare, mai ales în facilitățile cu resurse limitate sau sărace, unde rujeola are o tendință de creștere.

În concluzie am prezentat o experiență de 14 ani a unui singur centru de referință din România, unde am găsit o prevalență crescută a complicațiilor neurologice asociate HIV. Infecțiile oportuniste neurologice asociate HIV, raportate rar în alte cohorte pediatrice, au fost frecvente în cohorta noastră de copii infectați parenteral, similar cohortelor de adulți. Deși prevalența acestor infecții și a encefalopatiei HIV rămâne crescută în perioada post-cART, acest lucru se datorează cazurilor nou-diagnosticate și pacienților non-complianți în eșec. Am prezentat o serie de infecții oportuniste ale SNC, care sunt prezente în general la adulți, la un grup unic de copii și adolescenți, cu particularitățile lor. Am evaluat și utilitatea ARN HIV din LCR ca marker pentru HIV, dar și pentru alte infecții asociate HIV în SNC la copii, aspect care de asemenea nu a mai fost descris anterior pe un grup pediatric. De asemenea, am descris o complicație neurologică particulară unică a rujeolei la copiii infectați HIV. Pentru că rujeola este încă o infecție endemică (iar populația pediatrică HIV are anticorpi protectori scăzuți), encefalita subacută mioclonică rujeolică este o complicație severă de luat în considerare. Există o nevoie crescândă de definiții de caz exacte pentru infecțiile oportuniste pentru țările cu resurse limitate, dar și pentru țările dezvoltate.

Prezența și compartimentalizarea virusului hepatitei B în sistemul nervos central la pacienții infectați HIV

Având în vedere că în afectarea neurocognitivă la pacienții cu infecție HIV intervin pe lângă caracteristicile HIV, răspunsul imun al gazdei și co-morbiditățile, am studiat posibilul impact al coinfecției cu virusul hepatitei B (HBV) care nu a fost considerată a interfera până în prezent cu performanțele cognitive la pacienții cu infecție HIV. Ca urmare am evaluat prezența și posibilă compartimentalizare a VHB în sistemul nervos central la pacienții coinfectați cu HIV. Am inclus în analiză toți copiii și adolescenții infectați HIV-1 cu AgHBs pozitiv, la care s-a efectuat puncție lombară pentru diagnosticarea unor afecțiuni ale SNC. Din acest grup am selectat și analizat retrospectiv 26 probe pereche LCR și plasmă. La un subgrup de 5 pacienți la care am avut un volum suficient în probele stocate de plasmă și LCR și o încărcătură virală HBV de peste 1000 IU/ml în plasmă și LCR s-a evaluat rezistența la antivirale folosind un test de hibridizare inversă ce detectează prezența unor variante genetice ale HBV. Am detectat ADN HBV în LCR la 11 din 18 pacienți, cu ADN HBV plasmatic detectabil, și în toate cazurile încărcăturile virale de ADN HBV din LCR au fost mai mici decât în sânge, dar corelate pozitiv. Deși aceste date sugerează că nu întotdeauna există o compartimentalizare între sânge și SNC, pe de altă parte, am găsit dovezi ale compartimentalizării HBV în SNC prin analiza genotipică a mutațiilor de rezistență la medicamentele anti-HBV. Interesant este faptul că am descoperit că majoritatea pacienților cu expunere curentă la Lamivudină au HBV nedetectabil în LCR, deși 9 din cei 15 aveau ADN HBV detectabil în plasmă. Demonstrarea compartimentalizării HBV în SNC în cazurile cu rezistență la Lamivudină reprezintă o dovadă că HBV se poate replica independent în SNC și că SNC poate funcționa ca un sanctuar pentru HBV în apariția rezistenței HBV la medicamente, similar cu ceea ce s-a demonstrat la HIV.³⁶ Numărul mic de pacienți nu ne-a permis să determinăm semnificația clinică a prezenței sau titrurilor HBV în LCR în disfuncțiile neurologice; cu toate acestea, este surprinzător că trei participanți au avut accidente vasculare cerebrale, acesta fiind un diagnostic rar la adolescenți, chiar și la cei cu infecție HIV. În concluzie, am demonstrat prezența ADN HBV în LCR la un număr de pacienți coinfectați HIV-HBV și am găsit cazuri pentru care analiza genotipică a arătat că există o compartimentalizare a HBV între SNC și plasmă. Este încă neclar dacă prezența ADN HBV în LCR este asociată cu complicații neurologice. Dacă această asociație este confirmată, indicând că HBV poate contribui la neuropatogeneză, pacienții coinfectați HIV-HBV pot beneficia de regimurile ARV conținând Lamivudină sau chiar Tenofovir.

Afectarea neurocognitivă asociată HIV la o cohortă de adulți tineri din România cu infecție HIV dobândită parenteral în timpul copilăriei

Conform Organizației Mondiale a Sănătății (2013), aproximativ 34 milioane de oameni trăiesc infectați cu HIV, din care 3.3 milioane au sub 15 ani. Terapia antiretrovirală combinată (cART) devine tot mai disponibilă pentru aceste populații pediatrice, deși încă mulți nu au acces la tratament până nu ajung în faza de imunodepresie avansată. Datorită progreselor legate de cART, mulți copii cu HIV au supraviețuit până la vârsta adolescenței sau cea de tineri adulți. Cu toate acestea există puține date legate de efectele pe termen lung ale infecției HIV și ale terapiei antiretrovirale asupra dezvoltării cerebrale și cognitive. Evaluarea impactului HIV asupra SNC în timpul copilăriei este complicată în parte de lipsa definițiilor de caz mai ales pentru copiii mai mari. În acest context, am evaluat rata și severitatea afectării neurocognitive la un grup omogen de adulți tineri români cu același tip de virus, subtipul F, care au fost infectați în primul lor an de viață, la sfârșitul anilor 80, având mai mult de 20 de ani de la infecție HIV cronică și mai puțin de un deceniu de expunere la cART. Participanții cu infecție HIV au fost recrutați dintre pacienții aflați în evidența Departamentului HIV al Spitalului "Dr. Victor Babeș".

Am recrutat 49 de participanți HIV+ și 20 de participanți fără infecție HIV ca grup control. Participanții recrutați în studiu s-au născut între 1988 și 1991, au infecție HIV documentată și factori de risc pentru transmiterea parenterală în primii ani de viață, în timpul epidemiei HIV pediatrice. Participanții din lotul martor HIV- au fost recrutați în principal din București și din regiunile suburbane și erau în principal frații pacienților infectați și unii din colegii lor de școală. Toți cei 69 de participanți au fost supuși evaluărilor standardizate neurocognitive, psihiatrice și medicale. Protocolul de studiu a inclus o baterie de teste neuropsihologice comprehensive care a fost validată pentru detectarea și caracterizarea efectelor neurocomportamentale ale infecției HIV-1 în SUA³⁷ și în alte locații internaționale.³⁸ Bateria a evaluat șapte domenii neurocognitive: (1) fluente verbală, folosind litere, cuvinte și acțiuni; (2) viteza de procesare a informațiilor folosind Digit Symbol,

Symbol Search, Trails A, Color Trails 1 și Stroop; (3) atenția și memoria de lucru, folosind PASAT-50 și Spatial Span; (4) funcțiile executive folosind Category Test, Wisconsin Card Sorting Test-64 (WCST), Color Trails 2; (5) învățarea și (6) reamintirea la distanță folosind Brief Visuospatial Memory Testing - Revised (BVRT) și Hopkins Verbal Learning Test – Revised cu secțiune de învățare și respectiv secțiunea tardivă; (7) domeniul motor folosind Grooved Pegboard pentru mâna dominantă și non-dominantă. Instrumentele au fost adaptate pentru adecvare lingvistică și culturală și au fost traduse în română folosind metode standard de traducere inversă. Pentru a explora consecințele afectării neurocognitive asociate HIV din perspectiva funcționalității pacientului în activitățile cotidiene, au fost administrate două chestionare pentru a evalua (1) dificultățile cognitive în rutina zilnică a participanților folosind Patient's Assessment of Own Functioning Inventory (PAOFI)³⁹ ca și (2) gradul de independență legat de activități de rutină, folosind The Independent Activities of Daily Living Scale (ADL) questionnaire.⁴⁰

Am găsit rate înalte (59%) de disfuncții neurocognitive la adulții tineri infectați cu HIV în copilărie folosind o baterie de teste neuropsihologice validate pe alte cohorte internaționale de pacienți HIV și un grup de control de adulți tineri seronegativi cu un fundal socioeconomic similar. Mai mult de jumătate din adulții tineri infectați HIV au prezentat afectare neurocognitivă. Această rată este notabilă având în vedere că majoritatea participanților au beneficiat de cART, aveau încărcături plasmatice HIV nedetectabile și status imunologic bun, cu puțini factori de interferență și erau parte a unei cohorte de supraviețuitori de lungă durată cu infecție HIV. Conform cunoștințelor noastre, acesta este cel mai mare studiu care își propune să examineze performanțele cognitive conform criteriilor HAND la un grup omogen de adolescenți și adulți tineri supraviețuitori pe termen lung cu infecție HIV care au crescut și s-au dezvoltat având infecția HIV. În prezentul studiu, cele mai mari afectări ale funcționării cognitive legate de HIV au fost în domeniile funcționării executive și motorii, deși mai mult de jumătate de participanții HIV+ au avut afectări în 4 din cele 7 domenii cognitive evaluate (inclusiv viteza de procesare a informațiilor și memorie de lucru/atenție), concordante cu un model fronto-subcortical. Grupul nostru de adulți tineri infectați cu HIV a avut mai multe acuze decât lotul control, iar numărul de acuze a fost corelat cu scorul de deficit. Problemele cognitive autoraportate pot fi utile ca test de rutină pentru evaluarea afectării neurocognitive, deși există limitări în detectarea afectărilor ușoare prin limitarea autopercepției pacientului și posibilei influențe a depresiei asupra acestor raportări⁴¹.

În ceea ce privește evaluarea de neuroimagică utilizând un sistem multicanal în studiul pilot pe cele câteva cazuri selectate, considerăm că și-a dovedit validitatea în semnalarea unor modificări subtile la nivelul substanței albe corticale, concordant cu studii similare.⁴² Mai mult, am demonstrat concordanța între volumele de substanță albă anormală și performanțele reduse la domeniul de viteză a procesării informațiilor. Ca urmare, pot fi elaborate protocoale de cercetare care să aibă ca obiectiv explorarea suplimentară a acestui grup deosebit de interesant de pacienți folosind acest tip de abordare.

Aceste rezultate pot sta la baza unor studii viitoare, care ideal vor trebui să aibă o componentă longitudinală pentru a determina în ce măsură traiectoriile cognitive diferă în timpul acestei perioade critice de dezvoltare și în ce măsură este afectat procesul de maturare care survine în perioada de timp din copilărie la adolescență. În plus, asemenea studii trebuie să evalueze comportamentele cheie (asumarea de riscuri, luarea de decizii) și schimbările neuroanatomice (neuroimagică) la copiii/adulții supraviețuitori pe termen lung pentru a înțelege mai bine condițiile care pot apărea la cel mai mare grup de indivizi infectați în copilăria precoce și a putea planifica mai bine intervențiile cognitive și comportamentale.

Bibliografie

1. Hersh BS, Popovici F, Apetrei RC, et al. Acquired immunodeficiency syndrome in Romania. *Lancet* 1991; **338**(8768): 645-9.
2. Antinori A, Arendt G, Becker JT, et al. Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* 2007; **69**(18): 1789-99.
3. Robertson K, Liner J, Heaton R. Neuropsychological assessment of HIV-infected populations in international settings. *Neuropsychol Rev* 2009; **19**(2): 232-49.
4. Grant I. Neurocognitive disturbances in HIV. *Int Rev Psychiatry* 2008; **20**(1): 33-47.
5. Letendre S, Marquie-Beck J, Capparelli E, et al. Validation of the CNS Penetration-Effectiveness rank for quantifying antiretroviral penetration into the central nervous system. *Arch Neurol* 2008; **65**(1): 65-70.
6. Ene L, Duiculescu D, Ruta SM. How much do antiretroviral drugs penetrate into the central nervous system? *J Med Life* 2011; **4**(4): 432-9.
7. Brew BJ. HIV, the brain, children, HAART and 'neuro-HAART': a complex mix. *AIDS* 2009.
8. Sacktor N, Lyles RH, Skolasky R, et al. HIV-associated neurologic disease incidence changes:: Multicenter AIDS Cohort Study, 1990-1998. *Neurology* 2001; **56**(2): 257-60.
9. Bandea CI, Ramos A, Pieniazek D, et al. Epidemiologic and evolutionary relationships between Romanian and Brazilian HIV-subtype F strains. *Emerg Infect Dis* 1995; **1**(3): 91-3.
10. Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Comput Biol* 2009; **5**(9): e1000520.
11. Op De Coul E, van den Burg R, Asjo B, et al. Genetic evidence of multiple transmissions of HIV type 1 subtype F within Romania from adult blood donors to children. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000; **16**(4): 327-36.
12. HIV Sequence Database. Los Alamos National Laboratory; <http://www.hiv.lanl.gov>.
13. Mehta SR, Wertheim JO, Delpont W, et al. Using phylogeography to characterize the origins of the HIV-1 subtype F epidemic in Romania. *Infect Genet Evol* 2011; **11**(5): 975-9.
14. Mbisa JL, Hue S, Buckton AJ, et al. Phylodynamic and phylogeographic patterns of the HIV type 1 subtype F1 parenteral epidemic in Romania. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012; **28**(9): 1161-6.
15. Patrascu IV, Dumitrescu O. The epidemic of human immunodeficiency virus infection in Romanian children. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993; **9**(1): 99-104.
16. Ruta SM, Matusa RF, Sultana C, et al. High prevalence of hepatitis B virus markers in romanian adolescents with human immunodeficiency virus infection. *J Int AIDS Soc* 2005; **7**(1): 68.
17. Duiculescu D, editor. Progressive multifocal leucoencephalopathy in HIV-infected children. Bucharest: Editura Medicala; 2008.
18. Boisse L, Gill MJ, Power C. HIV infection of the central nervous system: clinical features and neuropathogenesis. *Neurol Clin* 2008; **26**(3): 799-819, x.
19. Power C, Boisse L, Rourke S, Gill MJ. NeuroAIDS: an evolving epidemic. *Can J Neurol Sci* 2009; **36**(3): 285-95.
20. Duiculescu L, Ene, L., Tardei, G., Achim, C.,L.,. Divergent trends in HIV RNA levels in the cerebrospinal fluid of children and adolescents with central nervous system complications. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment and Prevention. Rome, Italy; 2011.
21. Rawson T, Muir D, Mackie NE, Garvey LJ, Everitt A, Winston A. Factors associated with cerebrospinal fluid HIV RNA in HIV infected subjects undergoing lumbar puncture examination in a clinical setting. *J Infect* 2012; **65**(3): 239-45.
22. Bergroth T, Ekici H, Gisslen M, Hagberg L, Sonnerborg A. Difference in drug resistance patterns between minor HIV-1 populations in cerebrospinal fluid and plasma. *HIV medicine* 2009; **10**(2): 111-5.
23. Ellis RJ, Gamst AC, Capparelli E, et al. Cerebrospinal fluid HIV RNA originates from both local CNS and systemic sources. *Neurology* 2000; **54**(4): 927-36.
24. Christo PP, Greco DB, Aleixo AW, Livramento JA. Analysis of correlation between cerebrospinal fluid and plasma HIV-1 RNA levels in patients with neurological opportunistic diseases. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2011; **53**(4): 193-6.
25. Di Stefano M, Monno L, Fiore JR, et al. Neurological disorders during HIV-1 infection correlate with viral load in cerebrospinal fluid but not with virus phenotype. *AIDS* 1998; **12**(7): 737-43.
26. Eggers C, Hertogs K, Sturenburg HJ, van Lunzen J, Stellbrink HJ. Delayed central nervous system virus suppression during highly active antiretroviral therapy is associated with HIV encephalopathy, but not with

- viral drug resistance or poor central nervous system drug penetration. *AIDS* 2003; **17**(13): 1897-906.
27. Gisslen M, Hagberg L, Fuchs D, Norkrans G, Svennerholm B. Cerebrospinal fluid viral load in HIV-1-infected patients without antiretroviral treatment: a longitudinal study. *Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association* 1998; **17**(4): 291-5.
28. Angelini L, Zibordi F, Triulzi F, et al. Age-dependent neurologic manifestations of HIV infection in childhood. *Neurol Sci* 2000; **21**(3): 135-42.
29. Pratt RD, Nichols S, McKinney N, Kwok S, Dankner WM, Spector SA. Virologic markers of human immunodeficiency virus type 1 in cerebrospinal fluid of infected children. *J Infect Dis* 1996; **174**(2): 288-93.
30. Canto-Nogues C, Sanchez-Ramon S, Alvarez S, Lacruz C, Munoz-Fernandez MA. HIV-1 infection of neurons might account for progressive HIV-1-associated encephalopathy in children. *J Mol Neurosci* 2005; **27**(1): 79-89.
31. Abdulle S, Hagberg L, Svennerholm B, Fuchs D, Gisslen M. Continuing intrathecal immunoactivation despite two years of effective antiretroviral therapy against HIV-1 infection. *AIDS* 2002; **16**(16): 2145-9.
32. Grivel JC, Garcia M, Moss WJ, Margolis LB. Inhibition of HIV-1 replication in human lymphoid tissues ex vivo by measles virus. *J Infect Dis* 2005; **192**(1): 71-8.
33. Moss WJ, Scott S, Ndhlovu Z, et al. Suppression of human immunodeficiency virus type 1 viral load during acute measles. *Pediatr Infect Dis J* 2009; **28**(1): 63-5.
34. Tau GZ, Peterson BS. Normal development of brain circuits. *Neuropsychopharmacology* 2010; **35**(1): 147-68.
35. Duiculescu D, Ene, L., Ungureanu, E., Tardei, G., Ionescu, P., Anghelina, M., Achim, C.,L.,. Subacute measles encephalitis: a new AIDS defining disease in HIV-infected young patients. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. Sydney, Australia; 2007.
36. Canestri A, Lescure FX, Jaureguierry S, et al. Discordance between cerebral spinal fluid and plasma HIV replication in patients with neurological symptoms who are receiving suppressive antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2010; **50**(5): 773-8.
37. Heaton RK, Clifford DB, Franklin DR, Jr., et al. HIV-associated neurocognitive disorders persist in the era of potent antiretroviral therapy: CHARTER Study. *Neurology* 2010; **75**(23): 2087-96.
38. Heaton RK, Cysique LA, Jin H, et al. Neurobehavioral effects of human immunodeficiency virus infection among former plasma donors in rural China. *J Neurovirol* 2008; **14**(6): 536-49.
39. Chelune G, Heaton, R., Lehman, R.,. Neuropsychological and personality correlates of patient's complaints of disability. New York: New York Plenum Press; 1986.
40. Heaton RK, Marcotte TD, Mindt MR, et al. The impact of HIV-associated neuropsychological impairment on everyday functioning. *J Int Neuropsychol Soc* 2004; **10**(3): 317-31.
41. Blackstone K, Moore DJ, Heaton RK, et al. Diagnosing symptomatic HIV-associated neurocognitive disorders: self-report versus performance-based assessment of everyday functioning. *J Int Neuropsychol Soc* 2012; **18**(1): 79-88.
42. Jernigan TL, Archibald SL, Fennema-Notestine C, et al. Clinical factors related to brain structure in HIV: the CHARTER study. *J Neurovirol* 2011; **17**(3): 248-57.