

INFECCIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL POR EL CITOMEGALOVIRUS HUMANO

María Dolores Folgueira López
Servicio de Microbiología, Hospital Doce de Octubre, Madrid

El citomegalovirus humano (CMV) pertenece a la familia *Herpesviridae*, que incluye el virus de Epstein-Barr, los virus del herpes simple tipos 1 y 2, el virus varicela-zóster y los virus herpes humanos tipos 6, 7 y 8. Las partículas completas del CMV tienen un diámetro de 120 a 200 nm y consisten en un *core* que contiene una doble cadena de DNA, una cápside, un tegumento amorfo o matriz y una envuelta rica en fosfolípidos. El examen mediante microscopía electrónica muestra que los viriones del CMV son morfológicamente indistinguibles de otros herpesvirus, con un alto porcentaje de partículas virales defectivas y la presencia de unas partículas esféricas denominadas cuerpos densos. La replicación viral ocurre en el núcleo de la célula huésped y lleva consigo la expresión de varios tipos de genes: inmediato-tempranos, tempranos y tardíos.

La infección por el CMV es extraordinariamente frecuente y normalmente asintomática; sin embargo, la incidencia y los cuadros clínicos que produce en los recién nacidos y en los pacientes inmunodeprimidos, hacen de este virus un importante patógeno humano. Al igual que otras infecciones por virus herpes, la infección primaria por el CMV conduce al establecimiento de una infección persistente o latente; la reactivación del virus puede producirse en respuesta a diferentes estímulos. Se ha encontrado material genómico del CMV en monocitos y macrófagos, neutrófilos, linfocitos y células endoteliales, aunque el reservorio vírico sigue sin ser descubierto. Las técnicas moleculares han permitido estudiar la variabilidad entre diferentes cepas del CMV, mostrando un grado elevado de homología entre ellas, mucho mayor que la encontrada en otros virus de la misma familia, como los del herpes simple tipos 1 y 2.

El CMV es un virus con una baja patogenicidad que, sin embargo, es capaz de evitar los mecanismos defensivos del huésped, habiéndose elaborado diversas hipótesis para explicar este fenómeno; el CMV es un agente inmunosupresor que es capaz de unirse una vez liberado de la célula a la β_2 microglobulina del huésped, lo cual le protege de la acción de los anticuerpos en los fluidos extracelulares, y es capaz, como el virus del herpes simple, de inducir la producción de una glucoproteína que se encuentra en la superficie de la célula infectada y que le permite burlar la acción del sistema inmune. La diseminación sanguínea es un factor importante en la patogenia de un virus que puede infectar prácticamente cualquier órgano: hígado, pulmón, riñón, sistema gastrointestinal, sistema nervioso central (SNC), etc.

El CMV es el agente causal más frecuente de infección congénita, detectándose en un 0,2-2,5% de los recién nacidos; menos de un 5% de los niños infectados desarrollarán algún tipo de sintomatología. Las manifestaciones clínicas varían desde retraso en el crecimiento intrauterino, hepatoesplenomegalia, petequias, alteraciones del SNC, coriorretinitis hasta alteraciones localizadas. Los niños sintomáticos pueden morir en los primeros meses de vida, aunque normalmente sobreviven, pero con un importante daño neurológico. Incluso los niños infectados congénitamente que son asintomáticos al nacer pueden desarrollar sordera neurosensorial o problemas de aprendizaje años más tarde. La adquisición del virus puede ser perinatal, a través de la leche materna, produciéndose el contagio durante la infancia por contacto físico; la tasa más alta de transmisión se encuentra entre los niños con edades comprendidas entre los 13 y 24 meses, alcanzándose una prevalencia de anticuerpos anti-CMV en la edad adulta superior al 60% de la población.

AFECTACIÓN DEL SNC POR EL CMV

La manifestación clínica más grave de la infección congénita por el CMV es la afectación del SNC, que produce microcefalia, calcificaciones periventriculares, convulsiones, tetraplejía espástica e hidrocefalia. En el 50% de las infecciones congénitas sintomáticas se puede encontrar algún grado de afectación del SNC; como ya se ha mencionado, incluso cuando la infección es asintomática pueden aparecer secuelas neurológicas tardías, como la sordera neurosensorial. En la etapa postnatal la afinidad del CMV por el SNC es mucho más reducida, incluso en los pacientes inmunodeprimidos. La meningoencefalitis en los inmunocompetentes es algo poco frecuente, encontrándose pocas alteraciones en el líquido cefalorraquídeo (LCR), siendo la más frecuente la presencia de pleocitosis. El análisis anatomopatológico de las biopsias cerebrales muestra proliferación de la microglía y degeneración focal neuronal. En los pacientes con encefalitis crónica de Rasmussen se ha evidenciado la presencia de DNA del CMV en las biopsias cerebrales, aunque su papel como agente causal de esta enfermedad crónica del SNC es controvertido. Ocasionalmente, se ha descrito la presencia de encefalopatía y mielitis transversa en pacientes inmunodeprimidos, receptores de transplantes, etc. La evolución de todos estos pacientes, en general, suele ser favorable.

Este panorama cambió con la aparición del sida. Antes de la utilización de los tratamientos antirretrovirales de gran actividad, el 40% de los pacientes con sida presentaba signos y síntomas neurológicos, incluso se llegó a evidenciar en autopsias cambios patológicos en el SNC en el 78% de estos pacientes. Sin embargo, la mayor parte de estos cuadros clínicos estaban producidos por el propio virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y, cuando se evidenciaba la presencia de ambos virus en la misma lesión, era difícil dilucidar cuál de ellos era el responsable. Las dos principales formas de afectación del SNC en los pacientes con sida son la encefalitis y la polirradiculomielitis. La encefalitis suele presentarse como un cuadro subagudo, y puede acompañarse de meningitis y ventriculitis. La polirradiculomielopatía cursa de forma aguda o subaguda, y puede provocar por afectación lumbosacra, un síndrome de cola de caballo. El LCR suele mostrar pleocitosis polimorfonuclear. La introducción del tratamiento antirretroviral combinado con inhibidores de la proteasa en estos pacientes, ha producido un descenso espectacular de estos cuadros clínicos.

MÉTODOS DE DIAGNOSTICO DE LA INFECCION DEL SNC POR EL CMV

Se han desarrollado múltiples métodos diagnósticos de la infección por este virus a lo largo de los años; entre ellos se encuentran la determinación serológica de los anticuerpos anti-CMV en suero, diagnóstico histopatológico de los cuerpos de inclusión citomegálicos, inmunohistoquímica, hibridación *in situ*, detección de células endoteliales citomegálicas, aislamiento vírico mediante cultivo convencional o mediante la técnica de *shell-vial*, detección de antigenemia, así como las técnicas moleculares para la detección de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), *branched DNA* (bDNA), hibridación de captura y amplificación isotérmica basada en la secuencia de ácidos nucleicos (NASBA). La alta prevalencia de la infección por el CMV en la población general y el hecho de que el virus permanezca latente ha propiciado que algunas de estas técnicas se realicen de forma cuantitativa, reflejando la carga viral del paciente en el momento estudiado. Se asume que las cargas víricas altas indican una replicación viral activa, lo mismo que la detección de mRNA del virus. Las técnicas cuantitativas permiten, además, monitorizar la respuesta al tratamiento.

Entre las técnicas que se han empleado para el diagnóstico de la infección del SNC por el CMV (tabla 1) se encuentran el aislamiento viral convencional, en el que la muestra clínica (LCR) se inocula en unos tubos que contienen monocapas de fibroblastos humanos, observándose el efecto citopático (ECP) que el virus produce en ellos; este efecto suele ser visible tras ocho días de cultivo. La lentitud en la producción del ECP ha limitado mucho el uso de esta técnica, que hoy en día sólo se utiliza cuando se van a realizar pruebas de sensibilidad antiviral. Una modificación de esta técnica de cultivo es el *shell-vial* que, mediante una inmunofluorescencia indirecta utilizando un anticuerpo monoclonal dirigido frente al antígeno inmediato-temprano del CMV, detecta la presencia del virus en una monocapa celular tras 16 h de incubación. Se realizaron intentos de cultivo cuantitativo mediante esta técnica, que ha sido paulatinamente abandonada debido al desarrollo de técnicas cuantitativas con mayor sensibilidad. Una de estas técnicas es la detección de antigenemia que utiliza anticuerpos monoclonales que reconocen el antígeno viral pp65, una proteína estructural tardía que se expresa en los leucocitos durante la fase inicial de replicación viral. Esta prueba no sólo proporciona una información cualitativa, sino que permite cuantificar el virus presente en las células, correlacionándose la cantidad con la gravedad de la afectación clínica. Esta técnica puede dar resultados falsamente negativos cuando no existen suficientes leucocitos polimorfonucleares en la muestra.

Tabla 1. Métodos diagnósticos de la infección del SNC por el CMV.

Método	Muestras en las que se aplica	Comentarios
Cultivo celular	Sangre, tejido, orina, LBA, LCR.	Demasiado lento (1-3 semanas), poco sensible.
Shell-vial	Sangre, tejido, orina, LBA, LCR.	Rápido (1-2 d).
Antigenemia	Sangre, LCR	Rápido (horas), más sensible que el <i>shell-vial</i> y menos que la PCR; técnica cuantitativa.
PCR	Sangre, tejido, orina, LBA, LCR.	Detecta DNA o mRNA viral; muy sensible pero no indicativa de infección sintomática; permite cuantificar; falta de estandarización.
bDNA	Sangre, LCR.	Menos sensible que la PCR; muy reproducible.
NASBA	Sangre, LCR.	Detecta RNA viral, muy sensible y específica de enfermedad activa.

Las técnicas moleculares de amplificación de ácidos nucleicos han sido aplicadas al diagnóstico de la infección por el CMV desde el inicio de su desarrollo. Las técnicas de PCR, las más utilizadas hasta la fecha, son capaces de detectar tanto DNA como mRNA vírico. Dada la gran sensibilidad de estas técnicas, un resultado positivo no indica enfermedad activa, por lo que, en este caso, la cuantificación de los resultados es extraordinariamente importante. Se han descrito múltiples técnicas de PCR, siendo la falta de estandarización de estas pruebas su principal inconveniente. Existe un sistema comercial disponible basado en la PCR (Amplicor® CMV, Roche Molecular Systems), cuya evaluación utilizando muestras sanguíneas ha mostrado una buena correlación con la prueba de la antigenemia. Existe una versión completamente automatizada de este sistema, el COBAS Amplicor CMV Monitor. Otra técnica comercial es el Quantiplex CMV bDNA (Bayer Diagnostics), que no amplifica ácidos nucleicos del CMV, sino que amplifica la señal producida por la molécula bDNA al unirse a éstos. Es una técnica menos sensible que la PCR y la antigenemia.

En los dos últimos años han aparecido diversas publicaciones mostrando excelentes resultados con la utilización del sistema NASBA, que detecta el mRNA de la pp67, una proteína del tegumento codificada por el gen UL65 y que es uno de los transcritos tardíos más abundantes cuando está teniendo lugar la replicación vírica. La comparación de este sistema comercial para la detección del CMV en el LCR con el cultivo y la PCR muestra que esta técnica tiene una buena correlación con la enfermedad activa del SNC, mientras que el cultivo carece de suficiente sensibilidad y la PCR cualitativa es capaz de detectar DNA vírico en ausencia de sintomatología clínica.

El diagnóstico de la infección congénita y perinatal por el CMV sigue siendo difícil; la detección de anticuerpos IgM en la sangre del cordón y el aislamiento viral a partir de muestras de orina y exudados faríngeos siguen siendo los métodos diagnósticos más utilizados.

TRATAMIENTO

Actualmente existen tres compuestos antivirales para el tratamiento de las infecciones producidas por el CMV: ganciclovir, foscarnet y cidofovir, siendo el ganciclovir el más utilizado. Los tres compuestos inhiben la síntesis del DNA del CMV actuando sobre la DNA polimerasa viral. El ganciclovir debe ser fosforilado tres veces para ser un compuesto activo; la primera fosforilación la realiza una proteína-kinasa vírica codificada por el gen UL97 del CMV, y las dos siguientes las realizan enzimas celulares. El ganciclovir trifosfato es un inhibidor competitivo del sustrato natural de la DNA polimerasa del CMV y se incorpora al DNA viral. El foscarnet es un inhibidor no competitivo y reversible de la DNA polimerasa del CMV que no requiere activación intracelular para desarrollar su efecto antiviral y que no se incorpora a la cadena de DNA viral. El cidofovir, al igual que el ganciclovir, debe ser fosforilado para ser activo; es un inhibidor competitivo de la DNA polimerasa del CMV y se incorpora al DNA vírico, pero su fosforilación se realiza exclusivamente por enzimas celulares.

La respuesta al tratamiento en las alteraciones del SNC por el CMV en los pacientes con sida es bastante escasa; existe poca información sobre la posología y duración del mismo, dependiendo ambas cosas de la respuesta clínica del paciente y de sus condiciones basales, fundamentalmente de su estado de inmunodepresión. La terapia combinada de ganciclovir y foscarnet muestra una actividad sinérgica *in vitro*; esta combinación ha sido ensayada en el tratamiento de inducción de la infección del SNC en pacientes con sida indicándose su uso cuando la inmunodepresión es muy grave.

Gracias al desarrollo de métodos tanto genotípicos como fenotípicos, ha sido posible detectar y caracterizar cepas virales resistentes a cada uno de los fármacos individualmente, y de multiresistencias a los tres. La aparición de la resistencia ha sido descrita fundamentalmente en las cepas aisladas de pacientes con sida, y el grado parece ser directamente proporcional a la duración del tratamiento. Así, en el caso del ganciclovir, el compuesto más utilizado, se ha descrito la presencia de un alto nivel de resistencia en el 19% de los aislamientos durante los nueve primeros meses de tratamiento, mientras que esta cifra sube hasta el 64% cuando proceden de pacientes a los que les ha sido administrado este compuesto durante períodos más prolongados. Se ha propuesto que el tratamiento con ganciclovir seleccionaría inicialmente variantes del CMV con un bajo nivel de resistencia, que se caracterizan por mutaciones en el gen UL97 (que codifica la proteína-kinasa viral que fosforila el compuesto) y que darían paso, al continuar el tratamiento, a la aparición de subpoblaciones víricas con mutaciones en los genes UL97 y UL54 (gen que codifica la DNA polimerasa), lo que produciría un alto nivel de resistencia del virus al ganciclovir. También han sido caracterizadas un buen número de mutaciones puntuales en el gen UL54 que confieren resistencia al foscarnet y al cidofovir.

Ninguno de los tres fármacos mencionados hasta ahora carecen de efectos secundarios, por lo que es necesario el desarrollo de nuevos compuestos menos tóxicos capaces de inhibir la replicación del CMV. Actualmente existen nuevos fármacos en estudio, entre los que se encuentran los derivados benzoimidazólicos, adefovir, lobucavir y fomivirsén.

En cuanto a la prevención de la infección por el CMV mediante inmunización activa, tanto para prevenir la infección congénita como las infecciones en los receptores de trasplante, existe poca experiencia. Se valoró la vacunación con cepas virales vivas atenuadas en receptores de trasplante renal, siendo los resultados bastante mediocres, ya que la vacunación con las cepas Towne y Toledo no protegió a los pacientes de la sobreinfección con otras cepas víricas. En la actualidad se está trabajando en el desarrollo de una vacuna basada en la glucoproteína de la envuelta viral, gB; aunque la protección que pueda obtenerse no sea total, la adquisición de una inmunidad parcial podría evitar el desarrollo de las manifestaciones clínicas graves de la infección por el CMV.

BIBLIOGRAFÍA

Boeckh M, Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. Clin Microbiol Rev 1998; 11:533-554.

Hodinka RL. Human Cytomegalovirus. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology, 7ª ed. Washington DC: ASM Press, 1999; pp 888-899.

Erice A. Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 286-297.