



CLUB  
BIBLIOGRÁFICO  
GeSIDA

# MECHANISMS THAT CONTRIBUTE TO A PROFOUND REDUCTION OF THE HIV-1 RESERVOIR AFTER ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANT

Salgado M, Kwon M, Gálvez C, Badiola J, Nijhuis M, Bandera A, Balsalobre P, Miralles P, Buño I, Martínez-Laperche C, Vilaplana C, Jurado M, Clotet B, Wensing A, Martínez-Picado J, Diez-Martín J; for the IciStem Consortium.

# INTRODUCCIÓN

- El principal problema para no lograr la cura del VIH es la presencia de reservorios virales.
- El único caso en que se ha conseguido la erradicación del VIH ha sido en el “paciente de Berlín”. Paciente al que como consecuencia de una leucemia, se le sometió a un trasplante alogénico de células madres hematopoyéticas (TCMH) con la peculiaridad de que el donante tenía la mutación Delta-32 de coreceptor de quimiocinas CCR5.
- En otros pacientes sometidos a TCMH usando donantes sin esta mutación del CCR5, aunque no la “curación”, sí se ha observado una gran reducción del reservorio viral (pacientes de Boston).

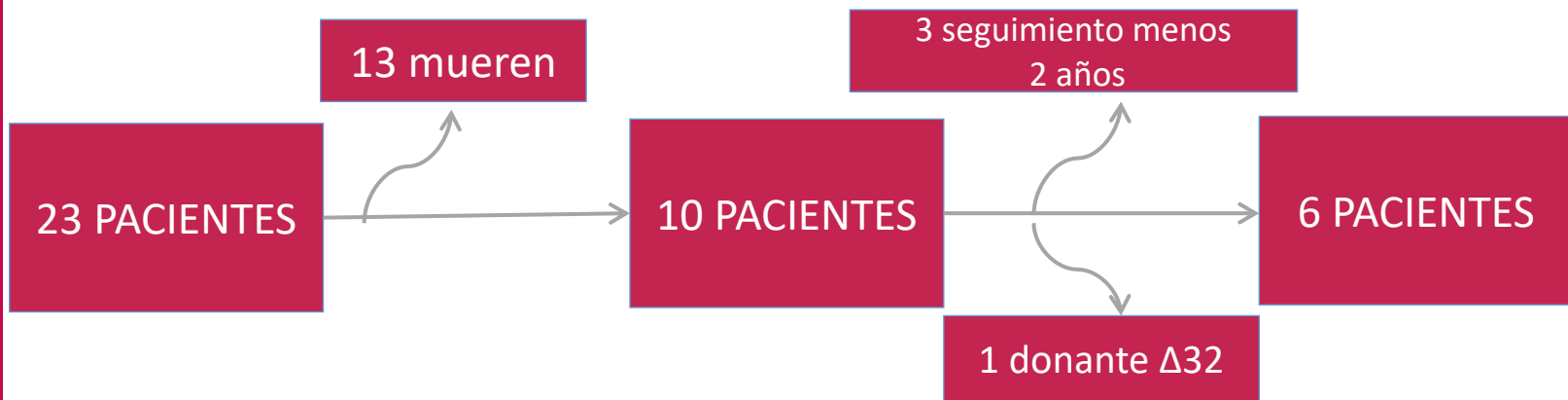
# OBJETIVOS

Investigar los factores que pueden estar implicados en la reducción /erradicación de los reservorios de VIH-1 en los pacientes sometidos a un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, cuyo donante no tenía la mutación del CCR5 que produce resistencia a la infección.

# MÉTODOS

*IciStem Consortium* es una cohorte observacional para el estudio de los reservorios de VIH en pacientes sometidos a TCMH.

Para este estudio se seleccionaron pacientes con una supervivencia superior a 2 años y cuyo donante no tenía la mutación  $\Delta 32$  del CCR5.



# MÉTODOS

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>EN QUÉ CONSISTE</b>	<b>TÉCNICA</b>
QUIMERISMO	Determinar si las células linfoproliferativas del paciente provienen del donante y/o del receptor.	PCR en determinadas zonas del DNA (secuencias cortas repetitivas) de los linfocitos y/o células mononucleares en sangre periférica y/o MO.
RESERVORIO EN SANGRE PERIFÉRICA	DNA-VIH	Leucoaféresis para obtener gran número de células mononucleares, lisis de las células y medición de DNA de VIH por PCR.
VIREMIA RESIDUAL	Carga viral VIH	PCR ultrasensible RNA VIH

# MÉTODOS

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>EN QUÉ CONSISTE</b>	<b>TÉCNICA</b>
RESERVORIO EN COMPARTIMENTOS ANATÓMICOS	Determinación de DNA del VIH en ileon, médula ósea, ganglio linfático y/o LCR	Se hace sólo en pacientes en que los reservorios sanguíneos son negativos. Se realiza PAAF del tejido y PL. Lisis de las células y medida de DNA mediante PCR.
DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE VIH		-Análisis cualitativo Western Blot -Análisis cuantitativo VITROS para VIH-1.
CRECIMIENTO VIRAL EN RATÓN HUMANIZADO	Inyección de CD4+T de los pacientes ratones humanizados.	Medición de RNA-VIH y DNA-VIH cada 2 semanas Medición de DNA de VIH en muestras del bazo del ratón

# CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Table. Clinical, Hematologic, and Virologic Characteristics of the 6 Patients

Characteristic	IciS-01	IciS-03	IciS-06	IciS-17	IciS-27	IciS-28
<b>Clinical characteristics</b>						
Sex	Male	Male	Male	Male	Male	Male
Age, y	34	51	40	46	47	44
Country of origin	Spain	Spain	Spain	Italy	Spain	Spain
<b>Hematologic characteristics</b>						
Diagnosis	Burkitt NHL (stage IV)	NK-NHL (stage IV)	HL (stage IV)	NHL (DLBCL)	NHL (stage III)	HL (stage III)
Year of allo-HSCT	2012	2013	2014	2010	2013	2009
Status at transplant	CR2	CR1	CR2	CR2	CR1	CR3
Donor type/graft source	Cord blood 7/8 (mismatch in DRB1) + mismatched related PBPC†	HLA-identical sibling/PBPC	HLA-haploidentical sibling/PBPC	HLA-identical sibling/PBPC	HLA-identical sibling/PBPC	HLA-identical unrelated/PBPC
Donor CCR5 type	CCR5 wt/wt	CCR5 wt/wt	CCR5 wt/wt	CCR5 wt/wt	CCR5 wt/wt	CCR5 wt/wt
Recipient HLA	A*02/02, B*44/51, Cw02/05, DRB1*04/07, DQB1*03/03	A*25/01, B*18/15, Cw12/03, DRB1*13/03, DBQ1*06/02	A*02/03, B*44/51, Cw05/07, DRB1*07/04, DQB1*02/03	A*03/24, B*18/51, Cw12/14, DRB1*07/11, DQB1*02/03	A*01/34, B*08/18, C*07/12, DRB1*01/11, DQB1*03/05	A*26/29, B*44/49, C*07/16, DRB1*01/07, DQB1*02/05
Donor-recipient HLA match	5/6 (DRB1)‡	10/10	6/8 (B*44/57 and DRB1-07/07)	10/10	10/10	10/10
Conditioning	MAC: FLU, CY, busulfan, and ATG	RIC: FLU and melphalan	RIC: FLU, CY, and busulfan	RIC: Thiotepa, FLU, and CY	RIC: FLU and CY	RIC: FLU and melphalan
Transplant-associated infections	<i>Escherichia coli</i> BK virus hemorrhagic cystitis	None	<i>Clostridium difficile</i> CMV reactivation	EBV reactivation (treated with rituximab)	None	CMV reactivation
GvHD prophylaxis	CsA + steroids	CsA + Mtx	Posttransplant CY + CsA + MMF	CsA + Mtx	CsA + Mtx	Tacrolimus + sirolimus
GvHD	No	Acute: Mild (by month 8), affecting the skin	Acute: Severe (by month 3), affecting the skin and intestines	No	Chronic: Mild (by month 4)	Acute (by day 12, grade II): Affecting the skin and intestines Chronic: Moderate

# CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

*Table.* Clinical, Hematologic, and Virologic Characteristics of the 6 Patients

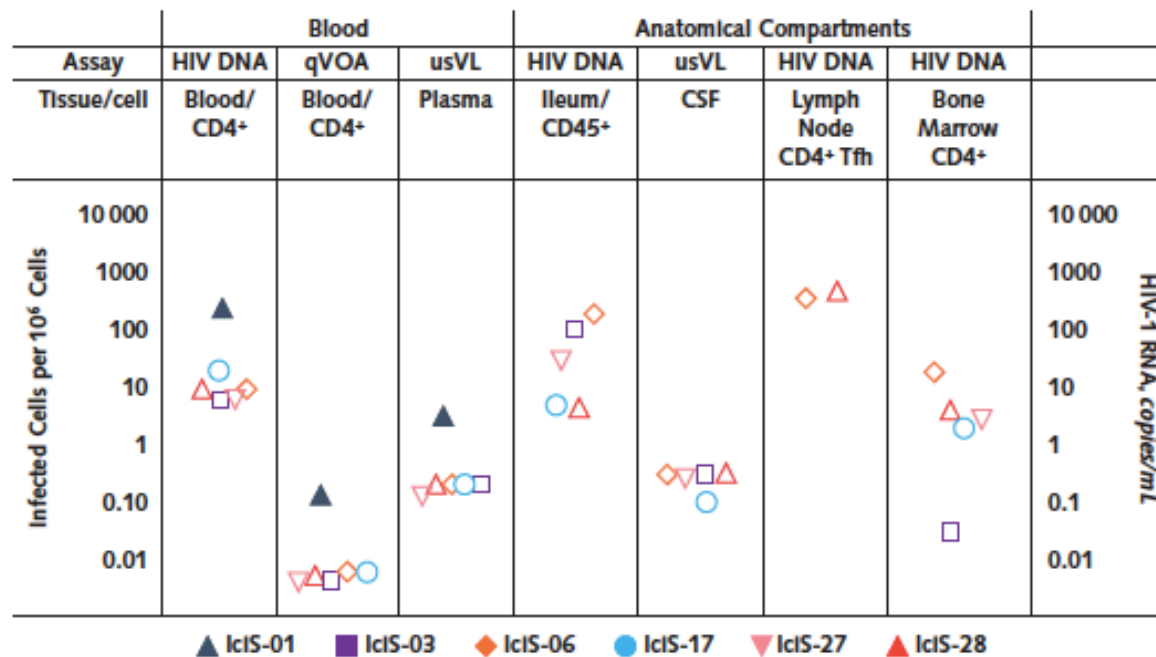
Characteristic	IciS-01	IciS-03	IciS-06	IciS-17	IciS-27	IciS-28
Time to complete chimerism, mo§						
Peripheral blood	2	1	3	1	ND	ND
T lymphocytes	18	1	3	ND	5.5	1
Bone marrow	12	6.5	6	ND	ND	ND

Se hacen determinaciones ultrasensibles de chimerismo celular en pacientes 01,03 y 06. Sólo el 01 mostró chimerismo mixto.



# RESULTADOS: MEDICIÓN DE RESERVORIOS

Figure 1. HIV reservoirs measured in blood and tissues after transplant.



Data are from the last collected sample for each patient. Open symbols represent undetectable values (only IctS-01 had detectable values). In those cases, the limit of detection for the sample varied on the basis of cell/volume input, and that value is represented. CSF = cerebrospinal fluid; qVOA = quantitative viral outgrowth assay; Tfh = T-follicular helper cells; usVL = ultrasensitive viral load.

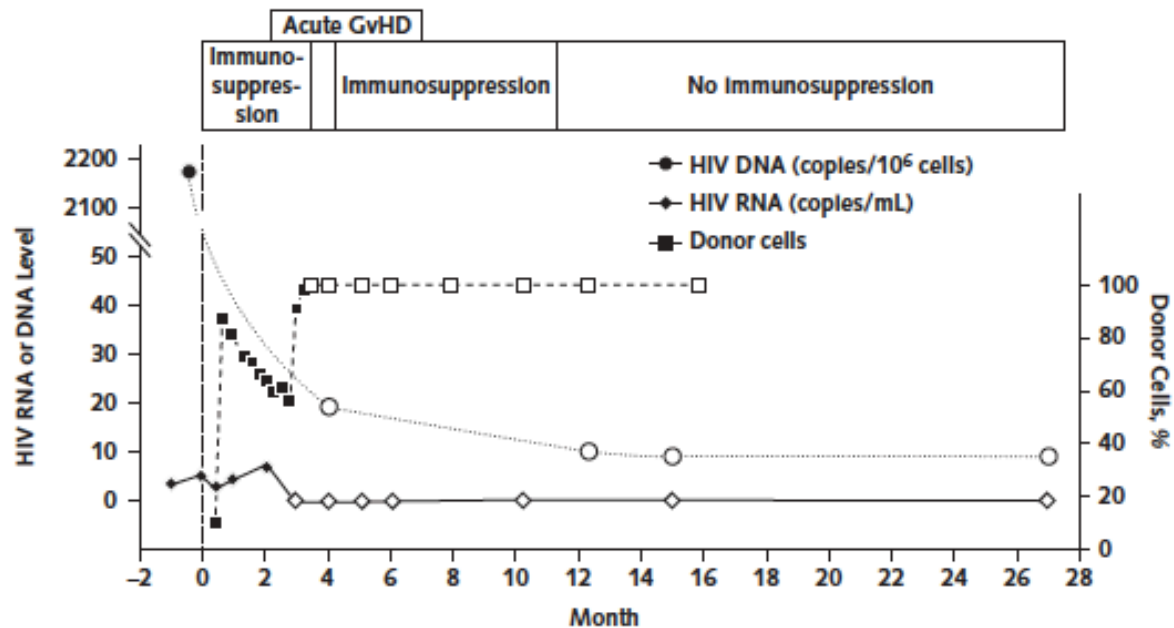
# RESULTADOS:

## DIFERENCIAS ENTRE IciS-01 Y EL RESTO

- El trasplante es de células de cordón.
- Recibe como tratamiento coadyuvante además de inmunodepresores anticuerpo antitimocito.
- El quimerismo total en linfocitos y MO es más tardío.
- Por métodos ultrasensibles el quimerismo no es total.

# RESULTADOS

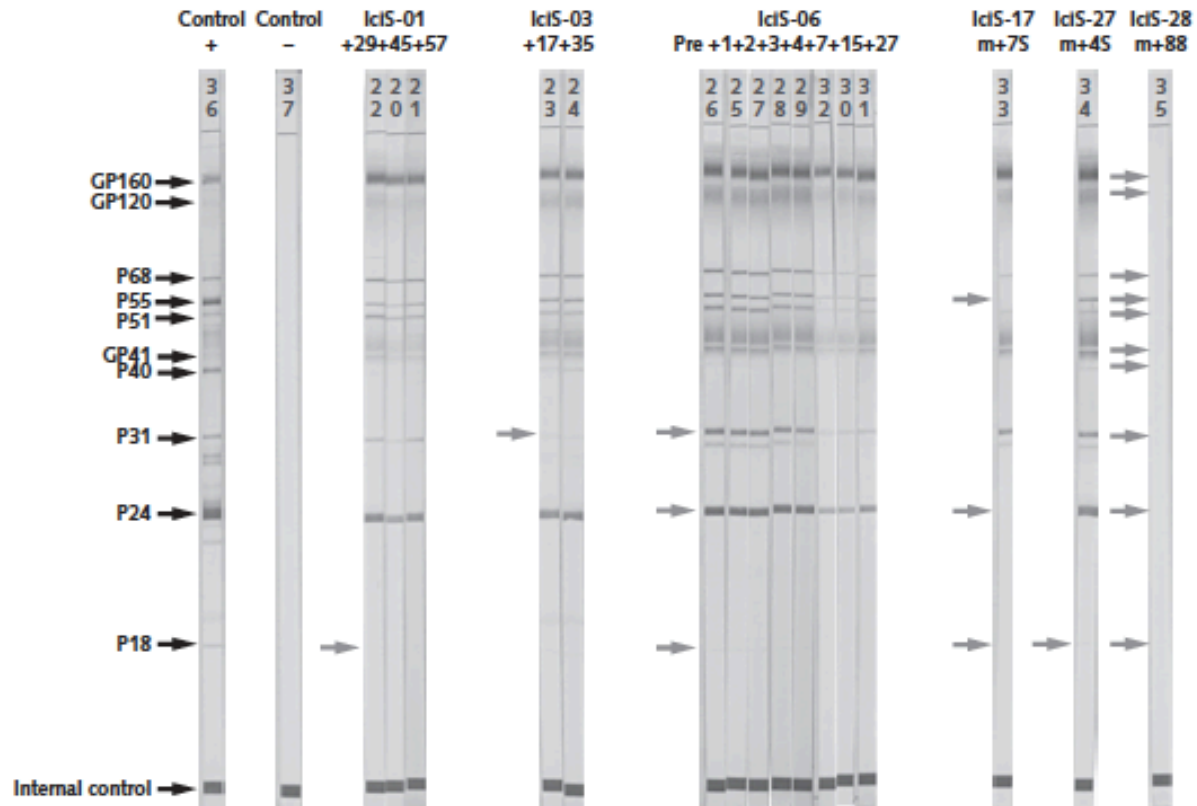
Figure 2. Peripheral blood standard donor chimerism, proviral HIV DNA, and plasma HIV RNA evolution after transplant in IciS-06.



Open diamonds and circles indicate undetectable HIV RNA (ultrasensitive viral load) and proviral HIV DNA, respectively, and represent the limit of detection of each technique, which is based on cell/plasma input. For chimerism expressed as percentage of donor cells, open squares indicate full donor chimera. GvHD = graft-versus-host disease.

# RESULTADOS: RESPUESTA HUMORAL

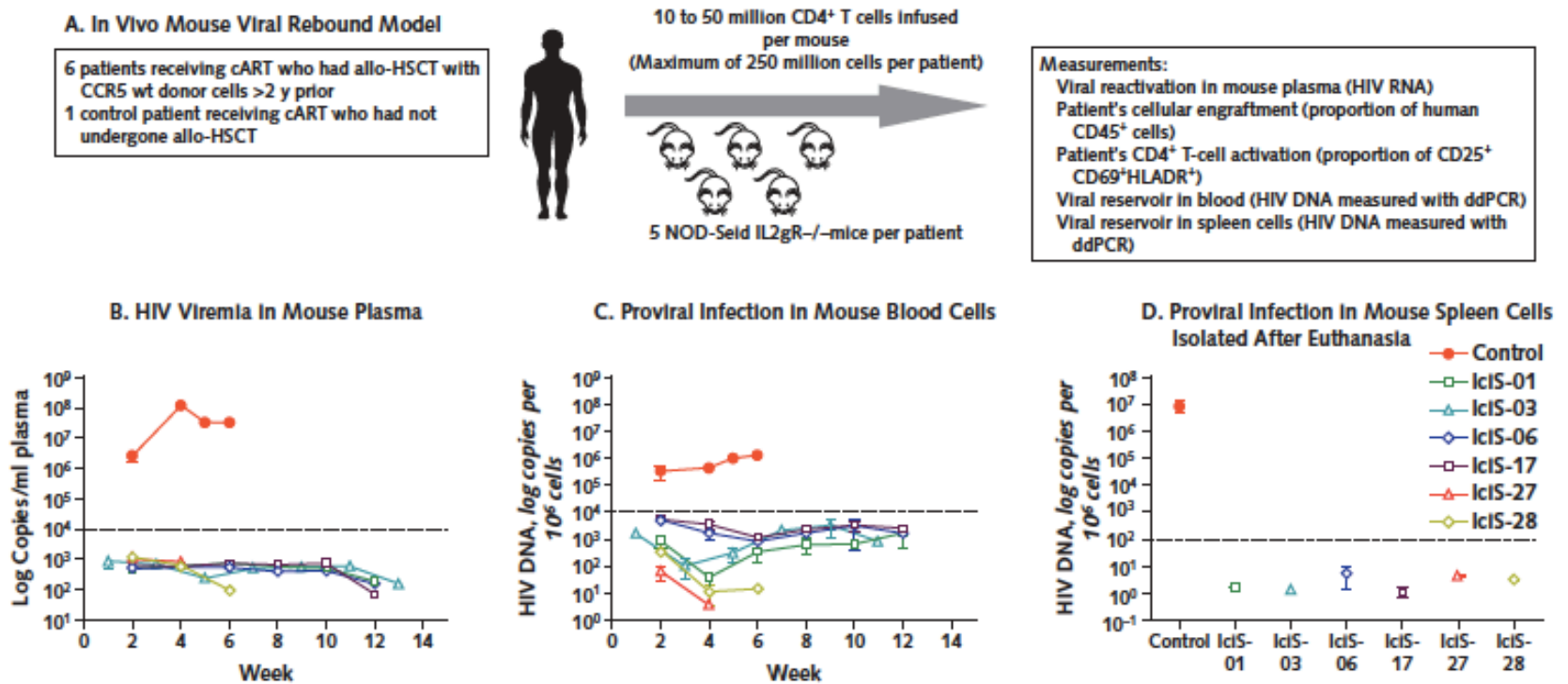
Appendix Figure 3. Western blot analysis from the 6 analyzed patients.



Gray arrows indicate bands left or reduced intensity in each case.

# RESULTADOS: TRASFUSIÓN DE LINFOCITOS CD4+ A RATONES

Figure 4. In vivo mouse viral rebound model.



All 6 patients had undetectable values. Limit of detection relative to plasma volume input is shown. Error bars represent medians and interquartile ranges of the values from the 5 mice used for each patient. allo-HSCT = allogeneic hematopoietic stem cell transplant; cART = combination antiretroviral therapy; ddPCR = droplet digital polymerase chain reaction; wt = wild-type.

# DISCUSIÓN

- Este estudio no sólo confirma la disminución de los reservorios virales en pacientes sometidos a TCMH, como los pacientes de Boston, sino que observa la desaparición de reservorio cuantificable en 5 de 6 pacientes.
- La peculiaridad es que esto ocurre en pacientes cuyo donante no tenía la mutación  $\Delta 32$  del CCR5.

# DISCUSIÓN

- El único paciente en que se detecta reservorio, recibió un trasplante de células de cordón umbilical condicionado con anticuerpo antitimocito, no desarrolló enfermedad de injerto contra huesped y persistieron las células del receptor (chimerismo mixto).
- El desarrollo de la enfermedad injerto contra huesped sería el responsable de esta erradicación (injerto contra reservorio-VIH).
- La diferencia con otras series (pacientes de Boston) que no erradicaron el VIH podría ser el tiempo. Nuestros pacientes tienen mayor supervivencia.

# DISCUSIÓN

- Los autores aclaran que no pueden asegurar que los reservorios hayan desaparecido totalmente, y que hasta que no se interrumpa el TAR esto no se va a poder saber.
- Señalan la importancia de mantener el TAR el máximo tiempo posible para evitar la infección de las células del injerto.
- Y por supuesto, no olvidar la alta morbimortalidad del TCMH, por lo que hoy por hoy no es una opción para el tratamiento de los pacientes VIH+.





**¡GRACIAS!**