Virus herpes humano tipo 6 y síndrome de astenia crónica

J.I. Cuende, M.P. Civeira, J.I. Riezu-Boj, A. Castilla y J. Prieto

Clínica Universitaria de Navarra. Departamento de Medicina Interna. Pamplona.

El síndrome de astenia crónica se ha relacionado en múltiples estudios con los virus del grupo herpes, especialmente con el virus de Epstein-Barr (EBV). Para conocer el posible papel en este síndrome del virus herpes humano tipo 6 (HHV-6), nuevo herpesvirus descubierto en 1986, hemos realizado un estudio serológico con 44 pacientes diagnosticados de síndrome de astenia crónica y 50 controles.
El 34 % (n = 50) de los controles sanos presentaban serología positiva frente al HHV-6, cifra que se elevó al 54,5 % en los pacientes (n = 44); estas diferencias son significativas (p < 0,05). El porcentaje de estudios serológicos positivos para CMV y EBV fue mayor en los controles sanos (n = 50) que en el grupo de pacientes (n = 37) (96 % frente al 67,7 % para CMV [p < 0,001] y 92 % frente al 78,4 % para EBV [diferencias no significativas]).
Se concluye que el HHV-6 puede intervenir en la patogenia del síndrome de astenia crónica. En nuestro grupo de enfermos no se han observado diferencias significativas en la presencia de anticuerpos anticápside del EBV.

Human herpesvirus type 6 and chronic asthenia syndrome

Chronic asthenia syndrome has been associated with Epstein-Barr virus (EBV). To investigate the possible role in this syndrome of human herpesvirus type 6 (HHV-6), a new herpesvirus discovered in 1986, we performed a serological study of 44 patients diagnosed of chronic asthenia syndrome and 50 controls. Fifty healthy controls (34 %) and 44 patients (54.5 %) had positive serological tests for HHV-6. This difference was significant (p<0.05). The rate of positive serological studies for CMV and EBV was higher in healthy controls (n=50) than in patients (n=37) (96 % vs 67.7 % for CMV [p<0.001] and 92 % vs 78.4 % for EBV [non significant difference]).
We conclude that HHV-6 may play a role in the pathogenesis of chronic asthenia syndrome. In our group of patients there were no significant differences in the presence of anti EBV capsid antibodies.

Med Clin (Barc) 1990; 94: 721-724

Este trabajo ha sido financiado parcialmente con Ayuda de Investigación de Cicyt n.° PM88-0187.

Correspondencia: Dr. J. Prieto. Departamento de Medicina Interna. Clínica Universitaria de Navarra. Apartado 192. 31080 Pamplona

Manuscrito aceptado el 2-2-1990

El síndrome de astenia crónica, también llamado síndrome de fatiga posvírica, encefalitis miálgica y síndrome similar a mononucleosis infecciosa, es un proceso de causa desconocida que ha sido objeto de interés de muchos investigadores, especialmente desde 1982. Han sido múltiples las probables causas estudiadas, especialmente la infección crónica por el virus de Epstein-Barr (EBV). Muchos autores han determinado anticuerpos en suero de pacientes con síndrome de astenia crónica frente a los diversos antígenos del EBV, con resultados contradictorios[1-3].
En 1986, Salahuddin et al[4] aislaron un nuevo virus en linfocitos B de pacientes con enfermedades linfoproliferativas, al que llamaron HBLV (*human B-lymphotropic virus*). Posteriormente, caracterizaron dicho virus como un nuevo virus herpes[5] y no se encontró relación genética[6] ni antigénica con los demás herpesvirus humanos; en la actualidad, al virus HBLV se le denomina HHV-6 (*human herpesvirus-6*). El tropismo del HHV-6 se extiende más allá de los linfocitos B e infecta predominantemente a células T maduras e inmaduras.
Las características seroepidemiológicas de la infección por el virus HHV-6 se han estudiado parcialmente. Se ha sugerido, por estudios serológicos, que el HHV-6 infecta al ser humano a edades tempranas de la vida[7], de forma similar a otros virus herpes, y que los anticuerpos persisten a lo largo de la vida en la población general[8,9]. Etiológicamente se ha relacionado al HHV-6 con el exantema súbito del niño[10]. También se ha relacionado al HHV-6 con el síndrome de astenia crónica, en casos aislados o en muestras pequeñas[11]. Se están estudiando las posibles interrelaciones entre el HHV-6 y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)[12]: ambos virus infectan células que expresan moléculas CD4 en su membrana citoplasmática[13] y el HHV-6 puede transactivar el promotor del VIH[14], por lo que el HHV-6 puede ser un importante cofactor en el desarrollo del síndrome de

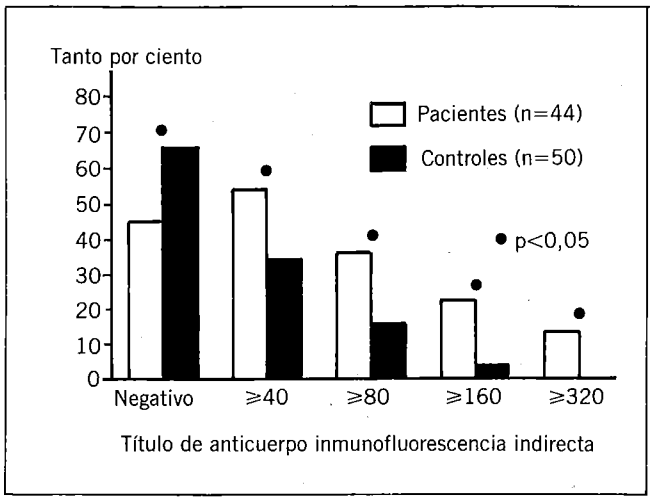

Fig. 1. Serología frente al virus del herpes humano tipo 6 (IgG) en pacientes con síndrome de astenia crónica y en un grupo control.

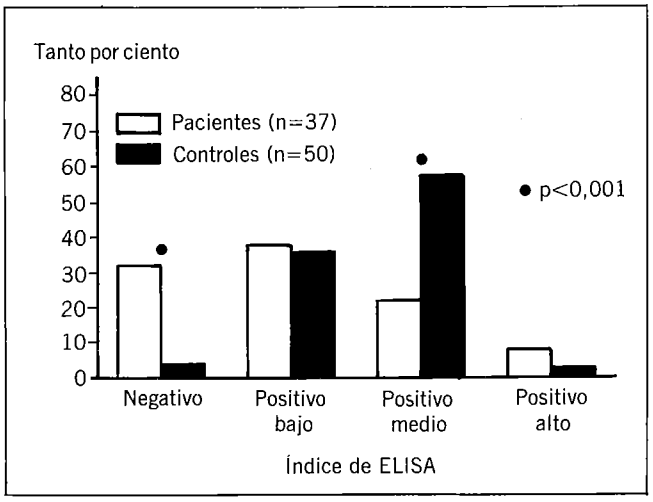

Fig. 2. Serología frente a citomegalovirus (IgG) en pacientes con síndrome de astenia crónica y en un grupo control.

inmunodeficiencia adquirida (SIDA)[15]. En definitiva, el HHV-6 es un nuevo virus en busca de una enfermedad. Se presenta un estudio con 44 pacientes con síndrome de astenia crónica y 50 controles que pone en relación el HHV-6 y el síndrome de astenia crónica.

Pacientes y método

Selección de pacientes y controles: Se han estudiado 44 pacientes que cumplían los requisitos para el diagnóstico de síndrome de astenia crónica[16] en los que, por consiguiente, se excluyeron exhaustivamente otras causas de su cuadro clínico (enfermedades tumorales; enfermedades autoinmunes; infecciones localizadas, crónicas o subagudas; inmunodeficiencias; enfermedad psiquiátrica crónica; enfermedades inflamatorias crónicas; enfermedades endocrinas; enfermedades neuromusculares; efectos secundarios de fármacos o drogas, y otras enfermedades crónicas pulmonares, cardiacas, gastrointestinales, hepáticas, renales y hematológicas). De los 44 pacientes estudiados, 33 eran mujeres (75 %) y 11, varones (25 %).
Como controles sanos se han seleccionado al azar 50 donantes de sangre o individuos sanos tras revisión de salud.
En la tabla 1 se especifican los signos y síntomas que presentaban los pacientes con síndrome de astenia crónica.

Pruebas serológicas. Los anticuerpos frente a antígenos del HHV-6 se han evaluado por inmunofluorescencia indirecta según técnica publicada anteriormente por Salahuddin et al[4]. Se infectaron células linfoblastoides (HSB-2) con el virus HHV-6 (donado por el Dr. Salahuddin); entre el cuarto y el octavo día de crecimiento tras la infección, se recogieron las céiulas y se fijaron sobre portaobjetos con acetona fría. Se utilizaron células sin infectar como controles negativos. Los portaobjetos se incubaron media hora con suero de pacientes e individuos control a diluciones seriadas y, posteriormente, con inmunoglobulina de conejo anti-IgG humana marcada con fluoresceína (Zymec Lab. Inc.). Se consideraron positivos aquellos sueros que presentaron inmunofluorescencia positiva granular y periférica a diluciones 1:40 o mayores. Estos resultados fueron confirmados por fluorocitometría de flujo.
Los anticuerpos IgG frente a antígenos de la cápside vírica del EBV (EBV-VCA) de pacientes y controles se titularon por inmunofluorescencia indirecta con portaobjetos preparados comercialmente (EBV Test de Gull Laboratories Inc.); se consideraron positivos aquellos sueros con inmunofluorescencia positiva a diluciones 1:20 o mayores.
Se ha realizado una prueba de enzimoinmunoanálisis absorbente (ELISA) comercial (Cytomegelisa Stat Test Kit, Whittaker Bioproducts) para cuantificar IgG frente a citomegalovirus (CMV); se consideraron positivos aquellos sueros con un índice de ELISA igual o superior a 1: positivos bajos los índices comprendidos entre 1 y 2,69, positivos medios entre 2,70 y 6,39 y positivos altos los iguales o superiores a 6,40.

Métodos estadísticos. Se ha aplicado la prueba exacta de Fisher para estudiar las diferencias de los tantos por ciento de seroprevalencia entre pacientes y controles.
En todos los casos se han considerado como diferencias significativas aquellas que presentan una probabilidad de error menor del 5 % ($p < 0,05$).

Resultados

Se ha realizado inmunofluorescencia indirecta frente a HHV-6 en sueros de los 44 pacientes y los 50 controles. El 54,5 % de los pacientes presentaban anticuerpos por inmunofluorescencia, mientras que ésta fue positiva sólo en el 34 % de los controles; estas diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Asimismo, se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) si se consideran títulos iguales o superiores a 1/80 (36,3 % de los pacientes y 16 % de los controles), a 1/160 (22,7 % y 4 %) y a 1/320 (13,6 % y 0 %) (fig. 1).
Por el contrario, el índice de anticuerpos IgG frente a CMV por ELISA fue significativamente menor en los pacientes (n=37) que en los controles (n=50). El 67,6 % de los pacientes presentaban un índice positivo, mientras que fue positivo en el 96 % de los controles ($p < 0,001$) (fig. 2). Los pacientes presentaron índices predominantemente negativos (32,4 %) y positivos bajos (37,8 %). En cambio, los controles presentaron índices predominantemente positivos medios (58 %) ($p < 0,001$) y positivos bajos (36 %). Es decir, se apreciaron diferencias significativas en cuanto a la positividad del índice del ELISA y en cuanto a su distribución.
La presencia de anticuerpos IgG frente a EBV-VCA por inmunofluorescencia indirecta no presentó diferencias significativas ni en su positividad (78,4 % de 37 pacientes y 92 % de los 50 controles) ni en cualquier titulación (fig. 3).
No se han encontrado diferencias significativas en la serología positiva de HHV-6 en cuanto al sexo ni en el cuadro clínico entre los pacientes con serología positiva y negativa frente a HHV-6. Se ha buscado una posible relación entre el índice de ELISA para CMV y el título de inmunofluorescencia frente a HHV-6 en pacientes y en controles y no se ha encontrado ningún tipo de correlación estadística.

TABLA 1

Perfil clínico de los pacientes con síndrome de astenia crónica

Síntoma o signo	Tanto por ciento
Astenia	100
Insomnio	79,1
Mialgias	79,0
Cefaleas	73,8
Síntomas depresivos	70
Pérdida de fuerza	66,7
Febrícula	59
Adenopatías dolorosas	57,1
Dificultad de concentración	54,8
Artralgias	51,2
Irritación faríngea	48,8

Discusión

El cuadro clínico que presentaban nuestros pacientes consistía fundamentalmente en una astenia de más de 6 meses de duración acompañada de artromialgias, cefaleas, insomnio, febrícula y síntomas depresivos, principalmente, y no difería, en esencia, de la expresada en

trabajos publicados anteriormente por otros autores[17].

El síndrome de astenia crónica es un proceso cuya etiología puede ser múltiple. Se ha publicado un caso de un paciente con fatiga persistente y depresión con anticuerpos frente a HHV-6 en Alemania[11]. En cambio, en Australia[18] no se ha encontrado diferencia significativa entre 59 pacientes y 15 controles respecto a la presencia de dichos anticuerpos. No obstante, el reciente aislamiento del virus HHV-6 en dos pacientes con síndrome de astenia crónica[19] apoya la posible participación de dicho virus en la enfermedad. Nosotros no hemos encontrado diferencias significativas en la presentación clínica de los pacientes con serología positiva y negativa frente a HHV-6. Este resultado apoya la idea de que el síndrome de astenia crónica puede estar causado por diversos agentes que ocasionan un mismo cuadro clínico y que, en nuestro medio, el HHV-6 podría desempeñar una función etiopatogénica importante.

En nuestro estudio se ha comparado el tanto por ciento de positividad de la serología frente a HHV-6 a diversos títulos y en todos ellos se ha encontrado diferencias significativas entre pacientes y controles. No creemos posible que estas diferencias se puedan atribuir a una activación policlonal del sistema inmune de estos pacientes; por una parte, no se detectó hipergammaglobulinemia policlonal y, por otra parte, no se objetivó un aumento de los títulos de anticuerpos frente a otros virus como el EBV; incluso, como en el caso del CMV, se apreció una disminución de anticuerpos circulantes en los pacientes respecto a los controles, como se puede apreciar en el índice de ELISA.

No se ha encontrado diferencias en la incidencia de serología positiva frente al EBV, diferencias que sí se encuentran en otros países, lo cual apoya la hipótesis de la diferente etiología según la región geográfica. Se ha titulado la IgG frente a EBV-VCA porque los individuos que han tenido contacto con el EBV, presentan IgG frente a EBV-VCA a títulos bajos de por vida, cuya concentración puede aumentar en caso de reinfección o reactivación del virus. En cuanto a otros antígenos del EBV, como los antígenos tempranos (EBV-EA), se han publicado resultados contradictorios sobre su utilidad en el síndrome de astenia crónica[1-3]. Aunque se han publicado datos a favor de una reacción cruzada entre anticuerpos frente a HHV-6 y a CMV[20], nosotros no hemos encontrado ninguna relación estadística entre los títulos de inmunofluorescencia para HHV-6 y el índice de ELISA para CMV. Salahuddin et al[4,6], en sus trabajos originales, han obtenido una sonda específica del HHV-6 que no reacciona con el genoma de los demás herpesvirus humanos; asimismo, tampoco obtuvieron reacción cruzada en los estudios serológicos entre HHV-6 y otros virus herpes, incluido el CMV. Estos resultados apoyan la individualidad de cada virus y la especificidad de las pruebas inmunológicas.

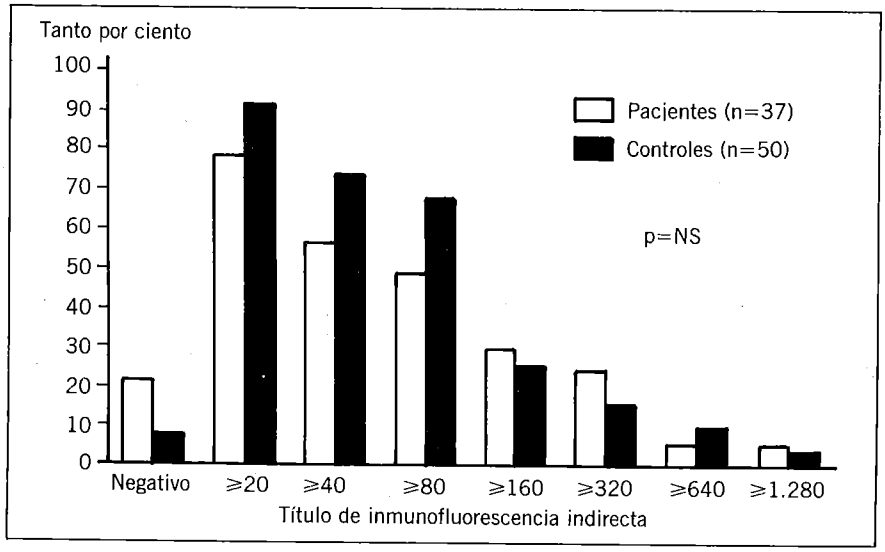

Fig. 3. Serología frente al virus de Epstein-Barr (IgG/VCA) en pacientes con síndrome de astenia crónica y en un grupo control.

La menor incidencia de serología positiva frente a CMV en los pacientes respecto a los controles podría deberse a algún tipo de alteración vírica entre las infecciones por HHV-6 y CMV. Este no es el primer caso de interacción vírica descrita con el HHV-6, ya que se ha publicado, por el equipo de Gallo[12], una asociación entre el aumento de la serología positiva frente al HHV-6 en individuos infectados con el VIH y en una población de alto riesgo de desarrollar SIDA y el peor pronóstico de la inmunodeficiencia.

Aunque el HHV-6 es altamente citopático *in vitro* con las líneas celulares normalmente utilizadas, es posible que produzca infección persistente e incluso transformante; esta hipótesis concuerda con el aislamiento del virus en células sanguíneas mononucleares de pacientes con astenia crónica[19] y con la identificación del genoma del HHV-6 en algunos tumores de células B[21,22]. Estos aspectos biológicos son similares a los que presenta el EBV.

Recientemente, Strauss et al[23] han publicado un estudio a doble ciego de tratamiento del síndrome de astenia crónica con aciclovir (500 mg por m^2 de superficie corporal repartido en tres dosis intravenosas al día durante 7 días, seguido de 800 mg cuatro veces al día por vía oral durante 1 mes) frente a placebo. Concluyen que el aciclovir no mejora el síndrome de astenia crónica y que la mejoría observada en algunos pacientes se debe a remisión espontánea o a efecto placebo. Por otra parte, Russler et al[24] demuestran que se requieren altas dosis de aciclovir para inhibir el crecimiento del HHV-6, mientras que el ganciclovir es altamente efectivo en la inhibición del crecimiento del virus. Ambos estudios son congruentes con la posibilidad del papel etiopatogénico que puede tener el HHV-6 en el síndrome de astenia crónica.

El 45 % de nuestros pacientes no presentaban evidencia de infección por HHV-6, lo cual indica que en estos casos podían estar presentes otros factores. Una hipótesis etiopatogénica del síndrome de astenia crónica es la disfunción inmunológica que presentan los pacientes con este síndrome por la confluencia de factores psicológicos y biológicos. Una alta proporción de los pacientes presentan ansiedad o síntomas menores de depresión. El estrés y la depresión se han asociado a una inmunodisfunción[25,26] que puede modular la historia natural de las infecciones víricas. Hemos observado en pacientes con síndrome de astenia crónica una disfunción de los fagocitos mononucleares mediado por opioides endógenos[27]; éstos son hormonas de estrés que se elevan en el suero de pacientes con depresión[28,29]. Al jugar los macrófagos y monocitos un papel central en la inmunidad antivírica[30], la disfunción de estas células en el síndrome puede alterar la respuesta inmune frente a los virus; esto podría favorecer la cronificación de las infecciones víricas y la inesperada baja prevalencia de IgG frente a CMV en nuestros pacientes. En resumen, se puede decir que el estrés y la depresión producen una liberación de opioides endógenos; dichos opioides provocan una disfunción de las células fagocitarias-monocitarias; dicha disfunción permite

la cronificación de la infección por HHV-6 u otro agente etiológico; el estrés y las alteraciones mentales que produce la cronificación de la enfermedad cierra un círculo vicioso.

Concluimos que el síndrome de astenia crónica es un proceso cuya etiología puede deberse a varios agentes patógenos y que, en nuestro medio, una causa de este síndrome puede ser el HHV-6 (virus herpes humano tipo 6).

BIBLIOGRAFÍA

1. Holmes GP, Kaplan JE, Stewart JA, Hunt B, Pinsky PF, Schonberger LB. A cluster of patients with a chronic mononucleosis-like syndrome. JAMA 1987; 257: 2.297-2.302.
2. Buchwald DB, Sullivan JL, Komaroff AL. Frequency of chronic active Epstein-Barr virus infection in a General Medical Practice. JAMA 1987; 257: 2.303-2.307.
3. Hellinger WC, Smith TF, Van Scoy RE, Spitzer PG, Forgacs P, Edson RS. Chronic fatigue syndrome and the diagnostic utility of antibody to Epstein-Barr virus early antigen. JAMA 1988; 260: 971-973.
4. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. Science 1986; 234: 596-601.
5. Biberfeld P, Kramarsky B, Salahuddin SZ, Gallo RC. Ultraestructural characterization of a new human B lymphotropic DNA virus (Human Herpesvirus-6) isolated from patients with lymphoproliferative disease. JNCI 1987; 79: 933-941.
6. Josephs SF, Salahuddin SZ, Ablashi DV, Schachter F, Wong-Staal F, Gallo RC. Genomic analysis of the human B-lymphotropic virus (HBLV). Science 1986; 234. 601-603.
7. Briggs M, Fox J, Tedder RS. Age prevalence of antibody to human herpesvirus 6. Lancet 1988; 1: 1.058-1.059.
8. Civeira MP, Cuende JI, Castilla A, Prieto J. Prevalencia de anticuerpos frente al virus herpes humano 6 (VHH-6 o HBLV) en la población general. Med Clin (Barc) 1989; 92: 199.
9. Brown NA, Sumaya CV, Liu CR et al. Fall in human herpesvirus 6 seropositivity with age. Lancet 1988; 2: 396.
10. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K et al. Identification of human Herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. Lancet 1988; 2: 1.065-1.067.
11. Krueger GRF, Koch B, Ablashi DV. Persistent fatigue and depression in patient with antibody to human B-lymphotropic virus. Lancet 1987; 2: 36.
12. Ablashi DV, Salahuddin SZ, Streicher HZ et al. Elevated HBLV (human Herpesvirus-6) antibody in HIV-1 antibody-positive symptomatic and asymptomatic individuals. Fourth International Conference on AIDS. Estocolmo (Suecia), junio 1988; abstr. 1.134.
13. Lusso P, Ensoli B, Markham PD et al. Productive dual infection of human CD4+ T lymphocytes by HIV-1 and HHV-6. Nature 1989; 337: 370-373.
14. Horvat RT, Wood C, Balachandran N. Transactivation of human immunodeficiency virus promoter by human herpesvirus 6. J Virol 1989; 63: 970-973.
15. Lusso P, Ensoli B, Negro F et al. Human herpesvirus 6 (HHV6) as a potential cofactor in AIDS. Fifth International Conference on AIDS, Montreal (Canadá), 4-9 junio, 1989; (póster W.C.P. 125).
16. Holmes GP, Kaplan JE, Gantz NM et al. Chronic fatigue syndrome: a working case definition. Ann Intern Med 1988; 108: 387-389.
17. Jones JF, Ray CG, Minnich LL, Hicks MJ, Kliber R, Lucas DO. Evidence for active Epstein-Barr virus infection in patients with persistent, unexplained illness: elevated anti-early antigen antibodies. Ann Intern Med 1985; 102: 1-7.
18. Wakefield D, Lloyd A, Dwyer J, Salahuddin SZ, Ablashi DV. Human herpesvirus-6 and mialgic encephalomyelitis. Lancet 1988; 1: 1.059.
19. Ablashi DV, Lusso P, Hung CL et al. Utilization of human hematopoietic cell lines for the propagation and characterization of HBLV (human herpesvirus 6). Int J Cancer 1988; 42: 787-791.
20. Larcher C, Huemer HP, Margreiter R, Dierich MP. Serological crossreaction of human herpesvirus-6 with cytomegalovirus. Lancet 1988; 2: 963-964.
21. Josephs SF, Buchbinder A, Streicher HZ et al. Detection of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus 6) sequences in B cell lymphoma tissues of three patients. Leukemia 1988; 2: 132-135.
22. Berthold F, Krueger GRF, Tesch H. Detection of immunoglobulin and T cell receptor gene rearrangements in benign lymphadenopathy associated with persistent HHV 6 infection. XX Meeting, International Society of Pediatric Oncology. Trondheim (Noruega), 22-26 Agosto, 1988 (resumen).
23. Straus SE, Dale JK, Tobi M et al. Acyclovir treatment of the chronic fatigue syndrome. N Engl J Med 1988; 319: 1.692-1.698.
24. Russler SK, Tapper MA, Carrigan DR. Susceptibility of human Herpesvirus 6 to acyclovir and ganciclovir. Lancet 1989; 2: 382.
25. Shavit YH, Terman GW, Martin FC, Lewis JW, Liebesking JC, Gale RP. Stress, opioid peptides, the immune system and cancer. J Immunol 1985; 135: 834s-837s.
26. Schindler BA. Stress, affective disorders, and immune function. Med Clin North Am 1985; 69: 585-597.
27. Prieto J, Subirá ML, Castilla A, Serrano M. Naloxone-reversible monocyte dysfunction in patients with chronic fatigue syndrome. Scand J Immunol 1989; 30: 13-20.
28. Berger PA, Nemeroff CB. Opioid peptides in affective disorders. En: Melltzer HY, ed. Psychopharmacology. The third Generation of Progress. Nueva York: Raven Press, 1987; 637-646.
29. Genazzani AR, Petraglia F, Sinforiani E, Brambilla F, Facchinetti F, Nappi G. Dysrregulation of plasma pro-opiomelanocortin-related peptides in neurotic depression. Acta Endocrinol (Copenh) 1986; 112: 1-6.
30. Morahan PS, Connor JR, Leary KR. Viruses and the versatile macrophage. Br Med Bull 1985; 41: 15-21.