

ÎN CE MĂSURĂ NOILE ANTIRETROVIRALE VIZEAZĂ SANCTUARELE?

În ce măsură noile antiretrovirale vizează sanctuarele?

Dr. Dan Duiculescu, Dr. Luminița Ene

¹*University of Medicine and Pharmacy from Craiova*

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș”, București

REZUMAT

Sanctuarele reprezentate în principal de sistemul nervos central și tracturile genitale sunt deseori subestimate/trecute cu vedere atât pentru alegerea unei scheme terapeutice cât și în monitorizarea clinică a pacientului cu infecție HIV. Articolul își propune să prezinte date recente referitoare la penetrabilitatea antiretroviralelor la nivelul lichidului cefalorahidian și a lichidelor tracturilor genitale. Deși antiretroviralele noi par a se concentra eficient la nivelul sanctuarelor, alegerea regimurilor terapeutice optime în vederea scăderii transmiterii HIV și controlului afectării neurocognitive rămâne o provocare.

Cuvinte cheie: HIV, tratament antiretroviral, sanctuare, LCR, lichid cervicovaginal, lichid seminal

ABSTRACT

The sanctuaries, represented mainly by the central nervous system and the genital tract are often overlooked when choosing an antiretroviral regimen or during clinical monitoring of the HIV-infected patient. The article reviews the recent data about antiretroviral penetrability in the cerebrospinal fluid and the genital tract fluids. Although the new antiretrovirals appear to concentrate adequately in sanctuaries, choosing an optimal therapeutical combination of antiretrovirals in a HAART regimen that aims to reduce HIV transmission or to control neurocognitive impairment remains a challenge.

Key words: HIV, antiretroviral treatment, sanctuaries, CSF, cervicovaginal fluid, seminal fluid

INTRODUCERE

Abordarea complexă a pacientului cu infecție HIV impune necesitatea personalizării regimurilor terapeutice în concordanță cu vârsta, sexul, comorbiditățile, stilul de viață. Alegerea schemei de tratament antiretroviral (ARV) combinat ar trebui să țină cont de factorii de risc individuali. Aceștia se referă la riscul de transmitere a infecției HIV partenerilor sexuali sau produsului de concepție, dar și la riscul de afectare neurocognitivă. S-a demonstrat că HIV se poate cantona și poate evolua independent în sanctuarele reprezentate de sistemul nervos central (SNC) și tractul genital (1).

Întrebarea este dacă din punct de vedere practic, medicul infecționist are în vedere aceste sanctuare în momentul alegerii unei scheme ARV sau în momentul în care evaluează un pacient cu ARN HIV plasmatic nedetectabil?

Ne propunem o trecere în revistă a concentrațiilor antiretroviralelor din două sanctuare cu impact major din punct de vedere clinic și epidemiologic: SNC și tractul genital. Vom lua în discuție factorii implicați în penetrabilitatea ARV la aceste nivele. În final vom trece în revistă date recente legate de penetrabilitatea în aceste sanctuare a noilor medicamente ARV. Aceste medicamente, care reprezintă o opțiune în regimurile de salvare pentru pacienții

Adresa de corespondență:

Dr. Dan Duiculescu, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș”, București

multiexperimentați, tind, datorită efectelor adverse reduse și a eficienței bune, să devină componente ale regimurilor de primă linie (2-4), fiind recomandate de ghidurile DHHS (5) și European AIDS Clinical Society (6).

Care sunt sanctuarele pe care trebuie să le avem în vedere în alegerea unui regim antiretroviral combinat și de ce?

Noțiuni cum ar fi compartiment, rezervor, sanctuar, sunt desori utilizate pentru a defini același lucru și considerăm că necesită clarificări. Un compartiment viral este locul anatomic la nivelul căruia virusul evoluează distinct față de alte zone anatomice la pacienții netratați (7). Rezervorul viral este un tip de celule sau un loc anatomic unde virusul persistă pe o perioadă prelungită de timp și este capabil să mențină pool-ul de celule infectate, cum ar fi de exemplu cel al celulelor CD4 cu infecție latentă, în cazul HIV (8). Un sanctuar viral este locul care este într-o mare măsură impermeabil sau slab permeabil pentru (anumite) antiretrovirale, la nivelul căruia replicarea virală continuă pe parcursul tratamentului, permițând dezvoltarea sau selecția tulpinilor rezistente (9, 10). Clasic, sanctuarele sunt reprezentate de sistemul limfatic, ochi, tractul genital și sistemul nervos central. HIV pătrunde la nivelul sanctuarelor încă din fazele inițiale ale infecției și poate determina o infecție autonomă (11-13). Mai mult, din cauza penetrabilității diferite a antiretroviralelor la aceste nivele, se pot selecta tulpini virale cu mutații de rezistență, diferite de cele circulante în plasmă (14). Există situații în care s-au găsit niveluri detectabile ale ARN HIV în lichidului cefalorahidian (LCR) și respectiv în fluidele tractului genital, în condițiile în care nivelurile plasmatice ale ARN HIV erau sub limita de detecție (15, 16). Din punct de vedere clinic, compartimentalizarea infecției cu HIV la nivelul sistemului nervos central (SNC) poate determina deficite neurocognitive care interferă cu funcționalitatea pacientului (17). Compartimentalizarea infecției HIV la nivelul organelor genitale poate influența transmiterea HIV (18). Concentrarea ARV la nivelul lichidului amniotic și a cordonului ombilical poate influența transmiterea materno-fetală a HIV (19).

Factori implicați în penetrabilitatea antiretroviralelor în sanctuare

Factorii de care depinde pătrunderea ARV la nivelul sanctuarelor țin de proprietățile fizico-chimice ale medicamentului, respectiv greutate moleculară, liposolubilitate, de legarea pe proteinele plasmatice (esențială pentru activitate este frac-

țiunea liberă), de metabolismul acestora (de exemplu procesele de ionizare în cazul Tenofovirului și Fuzeonului, de fosforilare în cazul Zidovudinei și Didanozinei), de mecanismele locale de eflux (dintre care un rol important îl are glicoproteina P – PGP, genele de multidrogrezistență – MRP), existența unor comorbidități (boli cu transmitere sexuală cu rol facilitator pentru transmiterea HIV, sau afecțiuni inflamatorii care afectează permeabilitatea membranei hemato-encefalice în cazul afectării neurologice) și nu în ultimul rând de interacțiunile medicamentoase (20, 21). Deși există o serie întreagă de factori ce influențează penetrabilitatea antiretroviralelor în sanctuare, măsurarea nivelurilor de antiretrovirale din lichidul cervico-vaginal, seminal și respectiv lichidul cefalorahidian (LCR) este folosită ca sistem de raportare în ceea ce privește penetrabilitatea medicației.

În tabelul 1 sunt ilustrați cei mai importanți factori implicați în pătrunderea medicamentelor în diferitele sanctuare (greutatea moleculară, legarea de proteinele plasmatice, concentrațiile plasmatice, raportul dintre concentrațiile din LCR, lichid cervicovaginal și respectiv seminal și plasmă).

În general, nivelurile ARV din LCR sunt mult mai mici decât cele plasmatice, sistemul nervos central fiind de departe sanctuarul care prin proprietățile speciale ale barierei hematoencefalice (BHE) și prin mecanismele complexe de eflux, reușește să limiteze drastic accesul substanțelor străine. La nivelul fluidelor genitale, unele medicamente antiretrovirale reușesc să atingă concentrații mult mai mari decât cele plasmatice (ZDV, 3TC, FTC, TDF, NVP, IDV). O altă observație este legată de faptul că există diferențe între permeabilitatea ARV la nivelul lichidului seminal și al lichidului cervico-vaginal, cu concentrare mai bună a ddI, d4T, ABC și dintre IP a ATV la nivelul lichidului seminal. Pe de altă parte, se pare că APV se concentrează mai bine la nivelul fluidului cervico-vaginal.

Cele mai multe componente ale clasei INNRT penetrează bine atât la nivelul fluidelor tractului genital, cât și LCR. Interesant este faptul că din grupul INNRT, NVP care are greutate moleculară mai mică și legare mai redusă de proteine plasmatice, pare să aibă avantaje în ceea ce privește penetrabilitatea la nivelul SNC cât și la nivelul gonadelor. În rândul inhibitorilor de protează, aceleași caracteristici diferențiază IDV de restul antiretroviralelor.

Analizând penetrabilitatea ARV în sanctuare, se pune problema în ce măsură proprietățile fizico-chimice ale medicamentului respectiv influențează concentrația din lichidele tractului genital. Este evident că legarea de proteinele plasmatice influențează pasajul prin limitarea cantității de medi-

TABELUL 1. Medicamente antiretrovirale aprobate, unele dintre proprietățile lor, concentrațiile plasmatice și raportul dintre concentrațiile medicamentelor la nivelul LCR, lichidului seminal și a celui cervicovaginal (20-36)

Nume aprobat	Greutate moleculară măsurată în ce?	Legare de proteine	Concentrație în plasmă	Raport LCR-plasmă	Raport lichid seminal – plasmă	Raport lichid cervicovaginal-plasmă
Zidovudine (ZDV)	267.2	34-38	4.5-6.7 μmol/ml	2,67-6,12%	200-235%	200-235%
Lamivudine (3TC)	229.3	<36	4.3-8.7 μmol/ml	1,16-13,1%	400%	400-660%
Stavudine (d4T)	224.2	Neglijabilă	3.3-6.4 μmol/ml	5,63-6,06%	4-5%	2-5%
Didanosine (ddl)	236.2	<5	2.12-11 μmol/ml	4,64-8,02%	21-100%	21%
Abacavir (ABC)	286.3	49	5.2-10.9 μmol/ml	9,62-36%	8-40%	8%
Emtricitabine (FTC)	248.2	-			375-450%	375%
Tenofovir disoproxil (TDF) (precursorul TDF: PMPA)	519.4 289.2 (PMPA)	-(PMPA)	296 ± 90 ng/mL	5%	110-400%	110-330%
Nevirapine (NVP)	266.3	60	7.5-16.9 μmol/ml	29-63%%	60-100%	70-130%
Efavirenz (EFV)	315.7	99.5	9.2-16.6 μmol/ml	0,26-0,99%	0,6%	0,4-3%
Etravirine (ETV)	435	99.9	0,6 μmol/ml			130%
Indinavir (IDV)	613.8	60	12.2-13.0 μmol/ml	0,25-6 %	40-200%	70-200%
Ritonavir (RTV)	721	98-99	10.5-26 μmol/ml	0-1,23%	20%	3-26%
Nelfinavir (NFV)	567.8	>99	5.6-8.45 μmol/ml	0-0,14%		5%
Saquinavir (SQV)	670.9	98	1.84-3.23 μmol/ml	0-0,25%	0-5%	0-3%
Amprenavir (APV)	505.6	90	10.6-19.2 μmol/ml	0,88-3 %	20%	20-50%
Lopinavir (LPV)	628.8	98-99	67945 ± 4215 μg/l	0,02-0,23%	3-30%	5-12%
Atazanavir (ATV)	704.9	++(+)	128–6200 ng/ml	0-0,65%	30%	18%
Fosamprenavir (FPV) (convertit rapid la Amprenavir)	585.6	+++				
Darunavir (DRV)	548	95	Mediană 3930 (1800–12900) ng/ml	0,88-1,64%	8,2-17%	150%
Enfuvirtide (T20)	446.2	+++	3.69 (SD 1.828) μg/mL	0%		ND
Maraviroc (MVC)	514	76	21.4–478.0 ng/ml	2,55-8,55%		
Raltegravir (RGV)	444	83	37–5180 ng/ml	2,43-5,41%	323%*	230%

*Voluntari fără infecție HIV

cament liber, inhibitorii de protează care se leagă intens de proteinele plasmatice realizând concentrații mai mici comparativ cu inhibitorii nucleozidici de revers-transcriptază cu legare redusă de proteinele plasmatice (25). Cu toate acestea, d4T, ABC și ddI par a fi excepții de la aceste reguli, posibil prin intervenția altor mecanisme.

Date recente referitoare la penetrabilitatea noilor antiretrovirale la nivelul LCR și lichidelor tracturilor genitale

Etravirina (37), un nou INNRT are o greutate moleculară medie de 435 Da și se leagă în proporție de 99,9% de proteinele plasmatice (37). Concentrațiile de etravirină din tractul genital feminin sunt de 1,3 ori mai mari comparativ cu cele plasmatice (30). În ceea ce privește penetrabilitatea la nivelul LCR, deși are legare mare de proteine plasmatice și în clasificarea recentă a lui Letendre are un scor de

penetrabilitate de 2, există date care indică eficiența clinică pentru pacienții multiexperimentați cu patologie nervoasă determinată de HIV (38).

Darunavir (DRV) este un inhibitor de protează (39), cu greutate de 548 Da și proporție mare de legare de proteine plasmatice. Atinge concentrații mai mari decât cele plasmatice la nivelul tractului genital feminin (150%) (30). De asemenea, Darunavir se concentrează în lichidul seminal la valori ce depășesc cu 50% concentrația eficientă (EC50) pentru virusul sălbatic (31). Mai mult, un studiu cu DRV în monoterapie a găsit o concentrație mediană în lichidul seminal care era apropiată de concentrația plasmatică liberă de DRV și de aproximativ 6 ori mai mare decât EC50, ceea ce demonstrează o bună penetrabilitate la nivelul tractului genital masculin (32). În ceea ce privește penetrabilitatea DRV în LCR, atât grupul de la San Diego condus de Letendre (40), cât și cel de la Gothenburg-San Francisco

(41), au găsit niveluri detectabile de la nivelul LCR la toți pacienții studiați. Cele mai multe niveluri din LCR depășeau IC50, ceea ce semnifică un nivel suficient pentru a inhiba replicarea tipului sălbatic al HIV. Aceste observații indică faptul că DRV poate fi folosit cu succes în schemele care vizează controlul replicării HIV la nivelul SNC.

Raltegravir (RGV), singurul inhibitor de integrază aprobat, are o serie de avantaje în ceea ce privește penetrabilitatea în sanctuare și anume greutatea moleculară de 444 Da și legarea de proteinele plasmatică de doar 83% (42). Studii recente indică un raport de 2,3 între concentrația RGV din fluidul cervico-vaginal și plasmă și o concentrație de 16 ori mai mare decât IC95 în tractul genital feminin (33). La voluntari sănătoși, nivelurile de RGV din lichidul seminal au fost de 3,23 ori mai mari decât cele plasmatică (43). La un grup mic de pacienți, Barau și colaboratorii au găsit un raport mediu de 145% între concentrațiile RGV din lichidul seminal și cele plasmatică (44). Mai mult, acest raport a fost mai mare la sfârșitul intervalului de dozare, sugerând acumularea medicamentului și persistența lui la nivelul compartimentului genital masculin, fie prin întârzierea transferului, fie printr-un clearance mai redus (34). Aceste atribute pot recomanda RGV în combinație cu alte ARV pentru scăderea transmiterii și compartimentalizării infecției HIV la nivelul tractului genital.

Într-un studiu publicat în 2009, Yilmaz și colaboratorii au găsit că în aproximativ 50% dintre probele de LCR, concentrațiile RGV depășesc IC95, acesta având concentrații inhibitorii în LCR la majoritatea pacienților (45). Într-un studiu similar, Letendre (46) a detectat niveluri ale RGV peste IC50 în toate probele de LCR de la cei 21 pacienți luați în studiu și a găsit o mediană a concentrației RGV în LCR de 14,5 ng/mL (IQR 9,3 - 26,1, limite 6,0 - 94,2). Concentrațiile plasmatică mediane au fost de 260,9 ng/mL (IQR 72,0 - 640,4, limite 17,8 - 4870). Raportul LCR-plasmă a fost 5,8% (IQR 2,1%- 17,8%, limite 1,0%- 53,5%). Ca urmare a acestor date RGV poate fi recomandat ca și component al regimurilor cu bună penetrabilitate la nivelul LCR (47).

S-au constatat diferențe în ceea ce privește tropismul populației virale prezente în LCR și respectiv tractul genital și plasmă, în sensul prezenței în mare măsură a tulpinilor HIV cu tropism CCR5 în LCR (48-50).

Studiile legate de tropismul HIV și de utilizarea co-receptorilor la nivelul creierului sunt limitate. Având în vedere că macrofagele derivate din monocite reprezintă celule de suport pentru infecția HIV productivă la nivelul SNC și că, cel mai probabil

joacă un rol major în dezvoltarea demenței legate de HIV, o serie de studii s-au axat pe co-receptorii utilizați de către aceste celule. CCR5 a fost găsit a fi principalul coreceptor utilizat de către izolatele HIV-1 din creier (51-53). Pacienții cu boală HIV în stadiu avansat (52) și în special cei cu demență și afectare neurocognitivă asociate HIV au avut tropism crescut pentru macrofage și au utilizat co-receptorii CCR5 (54, 55). Cu toate acestea, la unii indivizi, au fost identificate tulpini care utilizează atât CCR5 cât și CXCR4 pentru intrare (56, 57), deși utilizarea CCR5 pare a fi preferată (57).

În baza acestor observații prin care receptorii de CCR5 sunt frecvenți la nivelul creierului persoanelor infectate cu HIV, ca și pe baza studiilor care demonstrează că Maravirocul atinge concentrații adecvate în LCR (peste IC50) (36, 58), se poate concluziona că Maravirocul poate fi util pacienților cu afectare neurologică asociată HIV și în special celor cu deficit neurocognitiv. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare care să demonstreze eficiența Maravirocului la nivelul creierului și să răspundă la întrebarea dacă creierul poate fi considerat un potențial rezervor pentru co-receptorii CXCR4 după expunere la inhibitorii de CCR5.

În ceea ce privește tracturile genitale, studiile susțin compartimentalizarea infecției la nivelul tractului genital, cu diferențe între utilizarea co-receptorilor între HIV plasmatic și cel din tracturile genitale (18, 59, 60). Inflamația la nivelul tracturilor genitale poate determina creșterea expresiei receptorilor R5, astfel încât HIV cu tropism CCR5 se poate transmite preferențial la femeile cu boli cu transmitere sexuală (61). Rolul potențial al blocanților receptorilor R5 la nivelul tractului genital masculin în prevenirea transmiterii HIV se bazează pe o serie de date legate de slaba reprezentare a coreceptorului CXCR4 la acest nivel (60) și pe faptul că spermatozoizii exprimă pe suprafață CCR5 (62, 63).

Explorarea concentrației MVC în tractul genital feminin indică la voluntarii sănătoși o concentrație de 4,1 ori mai mare decât cea plasmatică (aceasta fiind una din cele mai bune rate raportată până în prezent pentru antiretrovirale) (35). Maraviroc are o legare mai redusă de proteine, comparativ cu cea plasmatică și niveluri de 10 ori mai mari decât IC90. Mai mult, același studiu arată persistența în timp, până la 72 de ore, a concentrațiilor crescute la nivelul lichidului cervico-vaginal.

Un studiu recent (36) arată ca Maraviroc (MVC) depășește IC50 din lichidul seminal la toți pacienții evaluați. Cu toate acestea, în cadrul studiului au fost găsite valori detectabile ale ARN HIV în lichidul seminal, indicând compartimentalizarea HIV la acest nivel.

La voluntarii sănătoși de sex masculin concentrațiile de MVC din lichidul seminal au fost cu 38% mai mici comparativ cu cele plasmatică. Cu toate acestea la nivelul țesutului rectal concentrațiile MVC au fost foarte mari, posibil prin eliminarea prin fecale a MVC, date ce susțin posibilitatea ca MVC să reducă transmiterea HIV la nivelul tractului gastrointestinal (64).

Concluzii și probleme de perspectivă

Datele privind penetrabilitatea în sanctuare a noilor molecule de antiretrovirale le recomandă atât la pacienții cu afectare neurologică asociată HIV cât și pentru reducerea concentrației la nivelul fluidelor tractului genital, care ar putea avea un impact asupra scăderii transmiterii sexuale a HIV. Cu toate acestea rămân o serie de probleme/întrebări la care vor răspunde studiile ulterioare. De ce unele ARV ating în lichidele tractului genital concentrații mai mari decât cele plasmatică? Compartimentalizarea HIV la nivelul tractului genital este reală sau mucoasa genitală prin structura ei nu poate să susțină evoluția unei populații HIV independente (65, 66)?

Concentrațiile HIV din lichidul seminal pot fi corelate cu ratele de transmitere (67). Din cauza penetrabilității diferite a antiretroviralelor în tractul genital, un nivel nedetectabil al ARN HIV în plasmă nu garantează niveluri nedetectabile în lichidele tractului genital (68). Mai mult, ADN HIV poate fi detectat în

celulele seminale la unii pacienți aflați în tratament ARV (69). Date de farmacocinetică au pus în evidență diferențe între concentrațiile extra și intracelulare de ARV, ceea ce face raportul dintre lichidul genital și cel plasmatic un marker surrogat suboptimal (70). HIV din lichidul cervicovaginal poate fi redus, dar nu eliminat de terapia antiretrovirală (71).

SNC reprezintă un sanctuar în care pe de o parte HIV poate pătrunde încă din fazele inițiale ale infecției și poate suferi procese de neuroadaptare, iar pe de altă parte structura specială a BHE ca și existența unui sistem eficient de transportori de eflux împiedică sau limitează accesul medicamentelor. Abordarea acestui sanctuar se poate face printr-o medicație care să aibă proprietăți fizico-chimice care să permită pasajul prin BHE (liposolubilitate, greutate moleculară mică) și pe de altă parte să nu poată fi accesată de transportorii de eflux (fie prin evitarea, fie prin blocarea acestora).

Dincolo de cunoașterea penetrabilității și mutațiilor de rezistență ale antiretroviralelor la nivelul sanctuarelor, evaluarea eficienței unui anumit regim cART trebuie să mai țină seama de sex, de factori inflamatori locali, de interacțiunile medicamentoase și de comorbidități. Cu toate acestea, problema controlului transmiterii HIV ca și ce a prevenirii sau ameliorării deficitului neurocognitiv, rămân subiecte pentru studii ulterioare.

BIBLIOGRAFIE

1. Hoetelmans, R.M., – Sanctuary sites în HIV-1 infection. *Antivir Ther*, 1998. 3 Suppl 4: p. 13-7.
2. Mills, A.M., et al – Once-daily darunavir/ritonavir vs. lopinavir/ritonavir în treatment-naive, HIV-1-infected patients: 96-week analysis. *AIDS*, 2009. 23(13): p. 1679-88.
3. Lennox, J.L., et al – Safety and efficacy of raltegravir-based versus efavirenz-based combination therapy în treatment-naive patients with HIV-1 infection: a multicentre, double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 2009. 374(9692): p. 796-806.
4. Cooper, D.A., et al – Maraviroc versus efavirenz, both în combination with zidovudine-lamivudine, for the treatment of antiretroviral-naive subjects with CCR5-tropic HIV-1 infection. *J Infect Dis*. 201(6): p. 803-13.
5. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents în HIV-1-Infected Adults and Adolescents. 2009 (cited 2010 25.May.2010); December 1, 2009
6. European Guidelines for treatment of HIV infected adults în Europe. Non-infectious Comorbidities în HIV 2009 (cited 2009 16 Nov); version 5
7. Kashuba, A.D., et al – Antiretroviral-drug concentrations în semen: implications for sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999. 43(8): p. 1817-26.
8. Reddy, Y.S., et al – Roundtable report: importance of antiretroviral drug concentrations în sanctuaries sites and viral reservoirs. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2003. 19(3): p. 167-76.
9. Pomerantz, R.J – Reservoirs of human immunodeficiency virus type 1: the main obstacles to viral eradication. *Clin Infect Dis*, 2002. 34(1): p. 91-7.
10. Saksena, N.K. and S.J. Potter – Reservoirs of HIV-1 în vivo: implications for antiretroviral therapy. *AIDS Rev*, 2003. 5(1): p. 3-18.
11. Bull, M., et al – Compartmentalization of HIV-1 within the female genital tract is due to monotypic and low-diversity variants not distinct viral populations. *PLoS One*, 2009. 4(9): p. e7122.
12. Diem, K., et al – Male genital tract compartmentalization of human immunodeficiency virus type 1 (HIV). *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2008. 24(4): p. 561-71.
13. Schnell, G., et al – Compartmentalization and clonal amplification of HIV-1 variants în the cerebrospinal fluid during primary infection. *J Virol*. 84(5): p. 2395-407.
14. Chun, T.W., et al – Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load în HIV-1 infection. *Nature*, 1997. 387(6629): p. 183-8.
15. Sadiq, S.T., et al – The effects of antiretroviral therapy on HIV-1 RNA loads în seminal plasma în HIV-positive patients with and without urethritis. *AIDS*, 2002. 16(2): p. 219-25.
16. Kalichman, S.C., et al – Effectiveness of an intervention to reduce HIV transmission risks în HIV-positive people. *Am J Prev Med*, 2001. 21(2): p. 84-92.
17. Heaton, R.K., et al – The impact of HIV-associated neuropsychological impairment on everyday functioning. *J Int Neuropsychol Soc*, 2004. 10(3): p. 317-31.
18. Kemal, K.S., et al – HIV-1 în genital tract and plasma of women: compartmentalization of viral sequences, coreceptor usage, and glycosylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003. 100(22): p. 12972-7.
19. Yeh, R.F., et al – Genital tract, cord blood, and amniotic fluid exposures of seven antiretroviral drugs during and after pregnancy în human immunodeficiency virus type 1-infected women. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009. 53(6): p. 2367-74.
20. Cohen, M.S., et al – Narrative review: antiretroviral therapy to prevent the sexual transmission of HIV-1. *Ann Intern Med*, 2007. 146(8): p. 591-601.
21. Varatharajan, L. and S.A. Thomas – The transport of anti-HIV drugs across blood-CNS interfaces: summary of current knowledge and recommendations for further research. *Antiviral Res*, 2009. 82(2): p. A99-109.

22. **Strazielle, N. and J.F. Gherzi-Egea** – Factors affecting delivery of antiviral drugs to the brain. *Rev Med Virol*, 2005. 15(2): p. 105-33.
23. **Solas, C., et al** – Discrepancies between protease inhibitor concentrations and viral load in reservoirs and sanctuary sites in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003. 47(1): p. 238-43.
24. **Taylor, S., et al** – Concentrations of nevirapine, lamivudine and stavudine in semen of HIV-1-infected men. *AIDS*, 2000. 14(13): p. 1979-84.
25. **Dumond, J.B., et al** – Antiretroviral drug exposure in the female genital tract: implications for oral pre- and post-exposure prophylaxis. *AIDS*, 2007. 21(14): p. 1899-907.
26. **Capparelli, E.V., et al** – Lopinavir concentrations in cerebrospinal fluid exceed the 50% inhibitory concentration for HIV. *AIDS*, 2005. 19(9): p. 949-52.
27. **DiCenzo, R., et al** – Lopinavir cerebrospinal fluid steady-state trough concentrations in HIV-infected adults. *Ann Pharmacother*, 2009. 43(12): p. 1972-7.
28. **Foudraire, N.A., et al** – Cerebrospinal-fluid HIV-1 RNA and drug concentrations after treatment with lamivudine plus zidovudine or stavudine. *Lancet*, 1998. 351(9115): p. 1547-51.
29. **Tashima, K.T., et al** – Cerebrospinal fluid human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) suppression and efavirenz drug concentrations in HIV-1-infected patients receiving combination therapy. *J Infect Dis*, 1999. 180(3): p. 862-4.
30. **Patterson, K., Rezk, N., Jennings, S., Falcon, R., Mrus, J., Kashuba – ADM, Darunavir, Ritonavir, and Etravirine Steady-state Pharmacokinetics in the Cervicovaginal Fluid and Blood Plasma of HIV-infected Women Enrolled in the GRACE Study in 47th annual meeting of the Infectious Diseases Society of America (IDSA)**, 2009: Philadelphia, PA, USA.
31. **Taylor, S., Jayasuriya, A., Dufty, N., et al** – Darunavir concentrations exceed the protein-corrected EC50 for wild type HIV in the semen of HIV-1-infected men, in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2010: San Francisco, USA.
32. **Lambert-Niclot, S., Duvivier, C., Algarte-Genin, M., Pakianather, S., Meynard, J.-L., et al** – Darunavir Concentrations in Seminal Plasma in Patients Receiving Darunavir/Ritonavir Monotherapy: A MONOI-ANRS 136 Substudy, in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2010: San Francisco, USA.
33. **Clavel, C., Mandelbrot, L., Marcelin, A.G., Crenn-Hebert, C., Heard, I., Bissuel, F., Ichou, H., Ferreira, C., Tubiana, R., Peytavin, G.** – Raltegravir Concentrations in the Cervico-Vaginal Compartment in HIV-1 infected Women treated with Raltegravir: DIVA 01 study, in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2010: San Francisco, USA.
34. **Bonora, S., D'Avolio, A., Simiele, M., Calcagno, A., et. al** – Steady-state Raltegravir Penetration in Seminal Plasma of Healthy Volunteers, in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2010: San Francisco, USA.
35. **Dumond, J.B., et al** – Maraviroc concentrates in the cervicovaginal fluid and vaginal tissue of HIV-negative women. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2009. 51(5): p. 546-53.
36. **Tiraboschi, J., Curto, J., Niubo J., Podzamczek, D.** – Maraviroc Levels in Cerebrospinal Fluid (CSF) and Seminal Plasma from HIV-Infected Patients in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections 2010: San Francisco, USA.
37. www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/intelence/emea-combined-h900en.pdf. 2010-05-18 (cited 2010-05-30).
38. **Couzigou, C., et al** – Efficacy of etravirine for treatment of acute HIV meningoencephalitis. *Clin Infect Dis*, 2009. 48(6): p. e62-5.
39. www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/.../emea-combined-h707en.pdf. 2009-02-12 (cited 2010-05-30).
40. **Letendre, S., Rossi, S., Best, B., et al** – Darunavir concentrations in CSF exceed the median inhibitory concentration, in 49th ICAAC (Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2009: San Francisco.
41. **Yilmaz, A., et al** – Darunavir concentrations in cerebrospinal fluid and blood in HIV-1-infected individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2009. 25(4): p. 457-61.
42. www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/isentress/H-860-en6.pdf. 2009-06-22 (cited 2010-05-30).
43. **Calcagno, A., et al** – Raltegravir penetration in seminal plasma of healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010. 54(6): p. 2744-5.
44. **Barau, C., et al** – High concentration of raltegravir in semen of HIV-infected men: results from a substudy of the EASIER-ANRS 138 trial. *Antimicrob Agents Chemother*. 54(2): p. 937-9.
45. **Yilmaz, A., et al** – Raltegravir cerebrospinal fluid concentrations in HIV-1 infection. *PLoS One*, 2009. 4(9): p. e6877.
46. **Letendre, S.L., et al** – Neurologic complications of HIV disease and their treatment. *Top HIV Med*, 2009. 17(2): p. 46-56.
47. **Calcagno, A., et al** – Raltegravir penetration in the cerebrospinal fluid of HIV-positive patients. *AIDS*, 2010. 24(6): p. 931-2.
48. **Soulie, C., et al** – Presence of HIV-1 R5 viruses in cerebrospinal fluid even in patients harboring R5X4/X4 viruses in plasma. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2009. 51(1): p. 60-4.
49. **Karlsson, U., et al** – Mode of coreceptor use by R5 HIV type 1 correlates with disease stage: a study of paired plasma and cerebrospinal fluid isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2009. 25(12): p. 1297-1305.
50. **Spudich, S.S., et al** – HIV-1 chemokine coreceptor utilization in paired cerebrospinal fluid and plasma samples: a survey of subjects with viremia. *J Infect Dis*, 2005. 191(6): p. 890-8.
51. **He, J., et al** – CCR3 and CCR5 are co-receptors for HIV-1 infection of microglia. *Nature*, 1997. 385(6617): p. 645-9.
52. **Albright, A.V., et al** – Microglia express CCR5, CXCR4, and CCR3, but of these, CCR5 is the principal coreceptor for human immunodeficiency virus type 1 dementia isolates. *J Virol*, 1999. 73(1): p. 205-13.
53. **Gorry, P.R., et al** – Increased CCR5 affinity and reduced CCR5/CD4 dependence of a neurovirulent primary human immunodeficiency virus type 1 isolate. *J Virol*, 2002. 76(12): p. 6277-92.
54. **Vallat, A.V., et al** – Localization of HIV-1 co-receptors CCR5 and CXCR4 in the brain of children with AIDS. *Am J Pathol*, 1998. 152(1): p. 167-78.
55. **Smit, T.K., et al** – Varied tropism of HIV-1 isolates derived from different regions of adult brain cortex discriminate between patients with and without AIDS dementia complex (ADC): evidence for neurotropic HIV variants. *Virology*, 2001. 279(2): p. 509-26.
56. **Gorry, P.R., et al** – Macrophage tropism of human immunodeficiency virus type 1 isolates from brain and lymphoid tissues predicts neurotropism independent of coreceptor specificity. *J Virol*, 2001. 75(21): p. 10073-89.
57. **Gray, L., et al** – Tissue-specific sequence alterations in the human immunodeficiency virus type 1 envelope favoring CCR5 usage contribute to persistence of dual-tropic virus in the brain. *J Virol*, 2009. 83(11): p. 5430-41.
58. **Yilmaz, A., et al** – Cerebrospinal fluid maraviroc concentrations in HIV-1 infected patients. *AIDS*, 2009. 23(18): p. 2537-40.
59. **Andreoletti, L., et al** – Genetic and phenotypic features of blood and genital viral populations of clinically asymptomatic and antiretroviral-treatment-naïve clade a human immunodeficiency virus type 1-infected women. *J Clin Microbiol*, 2007. 45(6): p. 1838-42.
60. **Pillai, S.K., et al** – Semen-specific genetic characteristics of human immunodeficiency virus type 1 env. *J Virol*, 2005. 79(3): p. 1734-42.
61. **Patterson, B.K., et al** – Repertoire of chemokine receptor expression in the female genital tract: implications for human immunodeficiency virus transmission. *Am J Pathol*, 1998. 153(2): p. 481-90.
62. **Barbonetti, A., et al** – Beta-chemokine receptor CCR5 in human spermatozoa and its relationship with seminal parameters. *Hum Reprod*, 2009. 24(12): p. 2979-87.
63. **Muciaccia, B., et al** – HIV-1 chemokine co-receptor CCR5 is expressed on the surface of human spermatozoa. *AIDS*, 2005. 19(13): p. 1424-6.
64. **Brown, K., Patterson, K., Malone, S., Shaheen, N., Prince, H., Dumond, J., Spacek, M., Heidt, P., Cohen, M., Kashuba, ADM** – Antiretrovirals for Prevention: Maraviroc Exposure in the Semen and Rectal Tissue of Healthy Male Volunteers after Single and Multiple Dosing, in 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2010: San Francisco, USA.
65. **Kelley, C.F., et al** – Lack of effect of compartmentalized drug resistance mutations on HIV-1 pol divergence in antiretroviral-experienced women. *AIDS*.
66. **Lowe, S.H., et al** – Is the male genital tract really a sanctuary site for HIV? Arguments that it is not. *AIDS*, 2004. 18(10): p. 1353-62.
67. **Chakraborty, H., et al** – Viral burden in genital secretions determines male-to-female sexual transmission of HIV-1: a probabilistic empiric model. *AIDS*, 2001. 15(5): p. 621-7.
68. **Loirello, G., et al** – Discordance in HIV-1 viral loads and antiretroviral drug concentrations comparing semen and blood plasma. *HIV Med*, 2009. 10(9): p. 548-54.
69. **Zhang, H., et al** – Human immunodeficiency virus type 1 in the semen of men receiving highly active antiretroviral therapy. *N Engl J Med*, 1998. 339(25): p. 1803-9.
70. **Dumond, J.B., et al** – Differential extracellular and intracellular concentrations of zidovudine and lamivudine in semen and plasma of HIV-1-infected men. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2008. 48(2): p. 156-62.
71. **Hart, C.E., et al** – Correlation of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in blood and the female genital tract. *J Infect Dis*, 1999. 179(4): p. 871-82.