

EVALUACIÓN INTEGRAL EN PACIENTES PEDIÁTRICOS VIH/SIDA CUBANOS DE TRANSMISIÓN VERTICAL: CONSIDERACIÓN DE BIOMARCADORES DEL METABOLISMO OXIDATIVO.

Autor: Tec. Yusimit Bermúdez Alfonso.

"Bermudez Alfonso, Yusimit" <yusimit@ipk.sld.cu

OTROS AUTORES: Ida Gonzalez Nuñez, Lizette Gil del Valle.

Laboratorio Farmacología Clínica, Hospital, Instituto “Pedro Kourí” .

Centro docente: Instituto “Pedro Kourí”, Facultad “Finlay-Albarrán”, 3er Año Tecnología de la Salud, Perfil Microbiología.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Se ha evidenciado que numerosos cofactores están asociados a la evolución de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) entre ellos el estrés oxidativo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó un estudio de casos y controles de corte transversal de los niños cubanos seropositivos al VIH con transmisión vertical. Se caracterizaron desde el punto de vista clínico, evaluando además índices del estado redox, hemoquímico, inmunológico y virológico comparando todos ellos con un grupo de niños supuestamente sanos relacionados en edad y sexo.

RESULTADOS: El 75% de los pacientes tenía tratamiento antirretroviral, presentando el 30% valores de carga viral indetectables. El conteo de subpoblaciones linfoides T CD4+ se encontró significativamente disminuido en el grupo VIH respecto al grupo control ($p < 0.05$).

Se encontraron diferencias significativas en los valores intracelulares de actividad enzimática de superóxido dismutasa y catalasa, los niveles séricos de glutatión reducido, hidroperóxidos totales, malonildialdehído, potencial de peroxidación y productos avanzados de la oxidación de proteínas para el grupo VIH respecto al grupo control ($p < 0.05$). Se observó diferencia significativa en los valores de velocidad de sedimentación globular, conteo de leucocitos y monocitos en el grupo VIH respecto al control ($p < 0.05$).

CONCLUSIÓN: La información obtenida es de utilidad y contribuye al manejo, seguimiento y tratamiento de los pacientes pediátricos.

Palabras claves: VIH, linfocitos T CD4, pediatría

INTRODUCCION

A pesar que se emplean biomarcadores de laboratorio rutinarios y otros indicadores de la evolución en el seguimiento de los pacientes en la infección VIH/sida, estos no explican completamente las alteraciones e incidencia de diferentes patologías que se producen en ellos. Así como las manifestaciones de eventos adversos y no deseados asociados a la terapia empleada. Uno de los cofactores relacionados con el hospedero considerados desde la aparición de la infección VIH/sida lo constituye la presencia de un metabolismo oxidativo alterado.

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) constituyen en los sistemas biológicos las sustancias de mayor carácter oxidante. Derivan, en su casi totalidad, del anión superóxido (O_2^-), el cual proviene de la cadena respiratoria y es continuamente producido por la membrana interna de las mitocondrias aunque en cantidades pequeñas. Un estímulo, ya sea endógeno o exógeno puede incidir en la generación de EROs. El estrés oxidativo (EO) se define como la pérdida del equilibrio entre la generación de oxidantes y la actividad antioxidante del sistema a favor de los primeros (1,2).

Cuando existe un estímulo endógeno que mantiene de manera sostenida la producción de EROs pudiera repercutir en el desarrollo de un estado inflamatorio crónico (3) que favorecería, en el caso de la infección por VIH, el incremento de la replicación viral, contribuiría al debilitamiento y desgaste del sistema inmune, activando el proceso de apoptosis en células T, determinando la formación de productos citotóxicos que pudieran repercutir en la función a nivel celular y sistémico. Todo esto se relaciona además con el metabolismo de algunos fármacos lo que pudiera influir en su efecto terapéutico y en los efectos tóxicos.

La infección por VIH/ sida constituye un estado patológico en que la homeóstasis del medio interno se encuentra alterada de manera sostenida, por lo que el EO que se produce hay que entenderlo en ese contexto (4).

En el caso de los pacientes VIH/sida existen evidencias moleculares y clínicas de un estado inflamatorio crónico que puede conducir a un estado de EO crónico. En las décadas anteriores durante el curso natural de la infección (sin terapia antirretroviral) la morbimortalidad asociada a la misma fue alta a nivel mundial. Actualmente el empleo de combinaciones en forma de triterapia de antirretrovirales (TARVAE) para el tratamiento de la infección por VIH ha disminuido notablemente la morbimortalidad de la misma y también ha influido en un cambio de manifestación en la incidencia de enfermedades. Al inicio de la infección se reconocían enfermedades oportunistas y algunas de ellas se definían como marcadoras de la condición sida. Actualmente las manifestaciones que se observan son mayoritariamente neuropatías, cardiomiopatías, manifestaciones articulares, diabetes y otras. Independientemente del efecto beneficioso de este tratamiento en la carga viral, el conteo absoluta de linfocitos T CD4+ y la evolución clínica de los pacientes, el uso de este tipo de fármacos contribuye al desarrollo de cambios metabólicos y físicos, que se reconocen como efectos no deseados. Además reportes en la literatura internacional muestran evidencias experimentales en adultos seropositivos al VIH que señalan una función mitocondrial alterada con repercusión en el balance redox (5-7).

La infección por VIH se produce en el niño antes que alcance el desarrollo completo del sistema inmune. Por lo que en el primer enfrentamiento a un patógeno es más proclive a manifestarse clínicamente con infecciones oportunistas que son habitualmente primoinfecciones. Esto explica en cierta medida que en el niño no exista un paralelismo tan estrecho entre el momento de presentación de las infecciones oportunistas y la cifra de linfocitos T CD4+. En ellos se describen 2 tipos de patrones evolutivos con relación al momento de la transmisión, ya sea intraútero,

intraparto y periparto, lo que influye en que sean progresores rápidos o lentos. Antes de la era de la TARVAE los niños del patrón intrauterino fallecían entre los 3-5 años de edad y los del patrón intraparto y periparto fallecían al llegar a la adolescencia. La media de supervivencia sin TARVAE es de unos 8 a 9,5 años (8).

En el caso de los niños el patrón de efectos no deseados también es diferente con respecto a lo reconocido en los adultos. En estos últimos se reconoce un envejecimiento prematuro y la incidencia de enfermedades asociadas con un desgaste fisiológico como la neuropatía, osteoartritis, lipodistrofias, fallo renal y otras. En muchas de las cuales se sugiere el EO puede incidir como cofactor en los mecanismos moleculares fisiopatológicos.

El EO ha sido objeto de múltiples estudios, en virtud de las pruebas que lo posicionan en el centro de la fisiopatología de algunas enfermedades (1,3). Sin embargo, la exploración de este estado en niños VIH con tratamiento antirretroviral es escasa y la mayor parte de los trabajos que se reportan en adultos, se centran en escasos biomarcadores oxidativos, y muchas veces en poblaciones de características heterogéneas. Nuestro objetivo fue, considerando todas las evidencias anteriores, valorar la oxidación de las líneas moleculares de proteínas y lípidos y algunos índices de actividad antioxidante relacionados con otros factores entre ellos índices hemoquímicos, inmunológicos y de carga viral, en los pacientes pediátricos cubanos infectados por VIH en el 2011 correspondiendo estos a momentos relacionados con al menos 3 años de instauradas las terapias en algunos y otros sin terapia. Comparando los índices en los diferentes tiempos con los evaluados en un grupo de niños aparentemente sanos.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio de casos y controles de pacientes pediátricos cubanos infectados con VIH por transmisión vertical (intraútero, intraparto y periparto). El grupo de estudio incluye 12 niños diagnosticados positivos con la prueba de Reacción en cadena de la Polimerasa (RCP) para el VIH y positivos en un confirmatorio con ensayo Western Blot (DAVIH BLOT VIH-I, DAVIH Lab) después.

En el estudio serán incluidos 24 individuos aparentemente sanos que estarán en correspondencia 1-2 con el grupo VIH de estudio. Se corroborará por las pruebas de laboratorio que no presentan ninguna infección aguda en el momento de la captación. A través del consentimiento informado expresaron su conformidad de participar en el mismo. Este grupo se considero debido a que los índices del estado redox y algunos índices clínicos dependen de condiciones macroambientales y de nutrición que están relacionados con el marco geográfico y de población. Muchos estudios a nivel internacional han obtenidos valores relacionados a los índices clínicos y del estado redox en población sana adecuados a la edad y al sexo pero difieren entre sí por la diversidad de técnicas y el procedimiento de medición.

Se hizo un seguimiento a **todos** los niños cubanos seropositivos al momento del estudio que fueron 12, entre los 4 y los 16 años de edad distribuidos en 7 provincias del país. Se realizó una extracción de sangre de la cual se obtuvo suero, eritrocitos y plasma. Como grupo control se utilizó un grupo de 24 niños supuestamente sanos que residen en La Habana, del mismo intervalo de edad y género que el grupo infectado por VIH (relación 1:2). Todos estos niños acudieron a la Consulta externa del Hospital del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”.

Los datos de la evolución clínica de los casos de estudio fueron por seguimiento activo del facultativo especialista médico y enfermera y se reflejaron los datos en un cuaderno de recogida de datos confeccionado al efecto y en las historias clínicas correspondientes.

Se utilizó sangre total para la determinación de las subpoblaciones linfoides, linfocitos para la medición de la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), suero para la determinación de los índices hemoquímicos y hematológicos y plasma para la determinación de carga viral y los índices del estado redox, todos los índices fueron cuantificados el día de la extracción.

Los procedimientos fueron realizados según lo aprobado por los Comités Internacionales para ensayos en humanos (Declaraciones de Helsinki), los de ética de manejo del paciente VIH/sida, y de acuerdo con las regulaciones nacionales establecidas. El protocolo fue sometido a la consideración y fue aprobado por la Comisión Científica Especializada de la Subdirección de Atención Médica y el Comité de Ética Médica del IPK. Los tutores o padres de los niños involucrados firmaron un consentimiento informado de participación en el estudio después de conocer de manera escrita y verbalmente los posibles riesgos y métodos a seguir.

Cuantificación de los niveles de ARN viral

Se utilizó el sistema NucliSens HIV-1 QT de la casa comercial Biomerieux siguiendo los procedimientos recomendados por el fabricante.

Cuantificación de subpoblaciones linfocitarias

Se determinaron por citometría de flujo, usando un citómetro FACScan de Becton Dickinson, California, Estados Unidos.

Los valores relativos de los linfocitos T CD3+, CD4+, CD8+, se cuantificaron utilizando técnicas estándar para triple marcaje, anticuerpos monoclonales y el programa CellQuest de Becton Dickinson.

Cuantificación de índices Hematológicos y Hemoquímicos

Las variables utilizadas para el estudio fueron hemoglobina, conteo de leucocitos con diferencial, plaquetas, velocidad de sedimentación globular (VSG), transaminasa glutámico pirúvica, ácido úrico, creatinina, proteínas totales, albúmina, índice albúmina/globulina.

Para determinar función hematológica se utilizó el diagnóstico de hemoglobina, hematocrito, conteo de plaquetas, conteo de leucocitos y diferencial, que se realizó con los reactivos para el contador hematológico Micro 60 de la firma ABX Biomerieux, Francia, cuyos reactivos están certificados y la VSG se determinó por el método clásico de Wintrobe basado en la proporción sangre - anticoagulante tratada con Citrato al 3.8 % (1.8 molar) y montado con una pipeta de Westergreen.

Para el estudio de la función hepática se determinaron los valores de transaminasa glutámico pirúvica, proteínas totales, albúmina e índice albúmina/globulina y para la función renal la creatinina y el ácido úrico.

Los reactivos utilizados para la función hepática y renal fueron comercializados por Boehringer Mannheim, Roche Diagnostic GmH-D-68298, de Alemania, mediante un analizador automático (BM/Hitachi 912).

Para todas estas determinaciones se utilizaron los procedimientos normalizados de operación de cada sección del Departamento de Laboratorio Diagnóstico Clínico del IPK.

Cuantificación de índices del estado redox

Para la cuantificación de glutatión (GSH) se empleó una modificación de la técnica que utiliza el reactivo de Ellmans reportada por Riddles y cols (9).

Para la determinación de malonildialdehído (MDA) se empleó un juego de reactivos para diagnóstico de LPO-586 de Calbiochem (La Jolla, CA).

Para la determinación del estado antioxidante total (PP) se empleó el método reportado por Erel, 2005 (10,11).

Para la determinación de hidroperóxidos totales (HPO) se empleó el estuche diagnóstico de Bioxytech H₂O₂-560 cat. 21024 (Oxis International Inc, Portland). El ensayo se basa en la oxidación del ión ferroso a férrico por los peróxidos orgánicos y el H₂O₂ en condiciones ácidas. La determinación de productos avanzados de oxidación de proteínas (PAOP) se realizó evaluando la transformación de los iones yodo a yodo diatómico que provocan los PAOP siguiendo el cambio de densidad óptica (DO) a 340nm. Se utiliza como patrón cloramina T y los resultados se expresan como μM de cloramina (12).

La medición de la actividad enzimática de las enzimas SOD y CAT se realizó en linfocitos. SOD según el método de Beyer y Fridovich, 1987. Como fuente de aniones superóxido se utilizó la descomposición catalítica de la xantina por parte de la enzima xantina oxidasa. Se mide la disminución de la reducción del citocromo C mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 546 nm, expresándose el resultado en u/mg de proteína x min (13).

CAT se determinó según el método de Clairbone basado en la descomposición de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno a través de la CAT, medido por espectrofotometría; se expresa en u/g de proteína x min (14).

Análisis Estadístico:

Los valores de cada una de las determinaciones realizadas se presentan como media y desviación estándar. Se verificó la normalidad de la distribución de cada variable (Test Kolmogorov-

Smirnov de una muestra). La comparación entre las medias de los distintos grupos se realizó mediante la prueba T de student para muestras independientes si se cumplía normalidad, en su defecto se empleó la prueba U de Mann Whitney. Se realizaron estudios de correlación (Spearman) y de asociación (Riesgo relativo) entre los índices del estado redox y la carga viral, el conteo de linfocitos T CD4+ y el tratamiento o no con antirretrovirales. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS 13, 2007.

RESULTADOS

Las características demográficas de los controles y los pacientes vienen referidas en la Tabla 1. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto a edad y género.

El análisis de los indicadores de seguimiento de los pacientes pediátricos infectados por VIH se reportan en la Tabla 2. Es importante en el manejo de estos pacientes reconocer la edad en que se confirman infectados por VIH, cuando marcan sida, el tipo de método diagnóstico empleado para ello y el tipo de tratamiento antirretroviral que toman.

En los grupos de estudio las enfermedades oportunistas constituyeron un marcador de sida en el 50% de los casos. El 36,3% del grupo evaluado se diagnosticó por el porcentaje de linfocitos T CD4+.

Dentro de la clasificación que incluye los parámetros inmunológicos (porcentaje y conteo de linfocitos T CD4+): dos niños fueron clasificados en el grupo A-1 (niños asintomáticos), cuatro niños se clasificaron en el grupo A-3 (síntomas ligeros con inmunodeficiencia grave), en el B-1, 2 niños (síntomas moderados sin inmunodeficiencia), en el B-3 clasificaron cuatro niños (síntomas moderados con inmunodeficiencia grave).

De los 12 pacientes en cada estudio, en seis se determinaron valores de carga viral menores de 50 000 cp/mL, tres menores que 1 000. Hubo tres niños con cargas virales no detectables.

El análisis de las actividades enzimáticas antioxidantes en linfocitos muestra diferencias significativas entre los controles y los pacientes en ambos períodos evaluados (Tabla 3). Los valores de SOD están significativamente disminuidos respecto a los controles. En cuanto a CAT los valores son significativamente mayores.

La concentración plasmática de GSH está significativamente reducida en los pacientes respecto a los controles. La disminución de GSH puede ir acompañada de un aumento de su producto de oxidación GSSG (Tabla 3).

También encontramos un aumento significativo de la peroxidación lipídica expresada por la producción aumentada de MDA e hidroperóxidos plasmáticos.

En el análisis de los valores de PP pudimos observar que son significativamente mayores en los pacientes con respecto a los controles.

En cuanto a PAOP los valores de los pacientes son superiores de manera significativa con respecto a los controles.

En la Tabla 4 se reporta el análisis de cada parámetro de EO en la población pediátrica supuestamente sana para establecer los valores de corte. El proceso anterior fue llevado a cabo considerando el 90 percentil de este grupo como media de referencia y para el intervalo de este hasta un 30 % del valor. Todo lo anterior nos permitió evaluar en cada paciente el grado de EO. Este análisis se reporta en la Tabla 4. La mayoría de los índices son evaluados como leves o moderados.

En la Tabla 5 se reportan los parámetros bioquímicos y hematológicos. Se observa una diferencia significativa en los valores de VSG, conteo de leucocitos y monocitos, y linfocitos T CD4+ con respecto a los controles. Se encontraron diferencias significativas para estos valores y la carga viral en las mediciones en pacientes en los diferentes momentos evaluados.

En la Tabla 6 se reportan los valores de correlación entre algunas de los biomarcadores de balance redox y los indicadores de progresión de la infección conteo de linfocitos T CD 4 y carga viral.

El estudio de asociación por análisis del riesgo relativo entre grupo de pacientes tratados y no tratados para carga viral y conteo de linfocitos T CD4+ en relación a los índices el estado redox resultaron no significativos con valores de $p > 0,05$.

DISCUSIÓN

Numerosos grupos de investigación a nivel mundial aportan evidencias experimentales referidas a la evaluación y seguimiento de los índices redox relacionados a otros biomarcadores en condiciones fisiológicas y fisiopatológicas diversas (1,2). Existen estudios previos que constatan la existencia de EO asociado a la infección por VIH (4,15,16), que se manifiesta como un aumento de los índices de oxidación y disminución de las capacidades antioxidantes. Algunos de estos estudios se enmarcan en la población pediátrica (17,18) que tiene características clínicas diferentes a los adultos (7).

El hallazgo principal del presente estudio es el aumento significativo de oxidantes lipídicos y proteicos en la población VIH/sida pediátrica con y sin tratamiento antirretroviral, así como el déficit de las defensas antioxidantes que se manifiesta en correspondencia con resultados previos (17,18).

Se lleva a cabo un seguimiento estrecho de estos pacientes desde el mismo nacimiento. No descartando en el manejo de los mismos factores genéticos y virales que pueden influir en la evolución. La mayor efectividad de los antirretrovirales se logra entre los tres y seis meses de tratamiento, pero se deben considerar que los niños, dado la inmadurez de su sistema inmune, presentan niveles de carga viral superiores al de los adultos y después de la seroconversión, dichos valores disminuyen más lentamente incluso, pese al tratamiento antirretroviral (5,6).

El porcentaje y conteo de linfocitos T CD4+ se emplea como indicador pronóstico de la evolución del paciente pediátrico porque permite alertar sobre la posibilidad de que ocurran infecciones oportunistas y facilita la toma de decisiones sobre cambios en la terapia antiviral (6). En el presente estudio, los niveles relativos medios de linfocitos T CD4+ (Tabla 2), en los grupos de estudio fueron significativamente inferiores a los observados en el grupo control sano. La mayoría de los pacientes en estudio recibieron tratamiento antirretroviral y sin embargo, los porcentajes y conteos de linfocitos T CD4+ están por debajo de la referencia para la edad. Esta disminución se produce por destrucción tanto por efecto directo como indirecto del virus sobre los mismos ocasionando una alteración en la homeostasis y regulación del sistema inmune (1,3,4). Los niveles de carga viral en el 75% es inferior a 10 000 cp/mL.

La población VIH se caracteriza por la confluencia de múltiples factores capaces por sí solos de provocar EO (1,4).

En la evaluación de EO sería útil poder cuantificar la generación de EROs producidos (O_2^- , OH^- , H_2O_2 , etc.), lo cual técnicamente es complejo debido a la corta vida media de los mismos además de que se emplean métodos inespecíficos. Por tanto, lo más adecuado es hacerlo de forma indirecta midiendo los resultados del daño que producen las EROs en diferentes biomoléculas y evaluar además el estado antioxidante (2).

Se ha sugerido que cuando las EROs superan la barrera antioxidante, pudieran interactuar con estructuras fosfolipídicas entre otras biomoléculas, produciendo en este caso la peroxidación lipídica (POL) (1). Algunos de los productos de esta reacción son el MDA y los HPO cuya cuantificación nos da una idea de la extensión de la POL. Es importante destacar que además de estos marcadores de POL existen otros productos como por ejemplo TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico), F2 isoprostanos y la mieloperoxidasa que permiten evaluar la extensión del proceso (2)

Varios autores han encontrado niveles elevados de POL en pacientes VIH pediátricos. En el presente resultado encontramos niveles significativamente elevados en el grupo VIH con

respecto a una población supuestamente sana. Los resultados encontrados en los pacientes coinciden con una serie de autores que igualmente detectan una POL aumentada (17,18).

Los pacientes en estudio presentaron valores de PAOP significativamente más elevados que el grupo control.

El estudio de los índices redox previamente relacionados se completó con el análisis de la actividad de las principales enzimas antioxidantes, así como del glutatión. El glutatión es un tiol tripeptídico que se encuentra en la mayoría de las líneas celulares en animales y probablemente sea el antioxidante celular más importante. El glutatión oxidado (GSSG) es muy tóxico para las células por lo que el organismo tiende a la reducción del GSSG a GSH mediante la glutatión-reductasa. Los pacientes de este estudio presentaron niveles disminuidos de GSH de manera significativa respecto a los controles sanos (1,2).

En condiciones normales, la concentración de antioxidantes es marcadamente superior a la concentración de productos oxidantes, de manera que la generación continua de EROs, derivados del metabolismo celular, quedaría regulada y neutralizada por ellas. Una protección antioxidante eficaz requiere la actuación sincronizada de varias enzimas; entre ellas estudiamos: SOD y CAT. El encontrar la actividad de SOD significativamente disminuida en los grupos VIH, y la de CAT aumentada, con respecto al grupo sano, pudiera estar reflejando el desbalance que existe entre los factores oxidantes y antioxidantes. Se conoce que un marcado déficit de actividad de la enzima CAT, usualmente da lugar a un aumento en la disponibilidad de H_2O_2 , que a su vez induciría a la SOD. En los estudios de correlación entre las variables del estado redox y los marcadores de progresión se incluyeron los valores de todos los pacientes y pudimos observar que existe correlación significativa entre la carga viral y MDA, HPO, CAT y GSH, así como en relación al conteo de linfocitos T CD4+ y PP. De este análisis podemos sugerir la posible relación entre la capacidad de replicación y los metabolitos que son reflejo del daño oxidativo molecular pero también del estado antioxidante secundario como lo es la concentración de GSH. En el caso de la capacidad inmunológica la estabilización y funcionamiento de muchos de los elementos celulares puede depender de la capacidad antioxidante protectora total como es el caso del linfocito T CD4+.

La extensión del proceso oxidativo se reflejó en que la mayoría de los índices evaluados están modificados de forma moderada. Lo anterior puede estar relacionado a la incidencia de la toxicidad del tipo terapéutico empleado y a la propia influencia del virus en la activación crónica del sistema inmune.

En reportes previos, los autores mostraron alteración de algunos índices redox en pacientes VIH+ pediátricos, independientemente del tipo de muestra o los biomarcadores analizados y las técnicas analíticas empleadas (17,18). En algunos de estos trabajos previos los pacientes recibían tratamiento y en otros no. De estos resultados se reconoce la posible asociación del EO a la evolución de la infección y también asociado a la terapia antirretroviral, sugerido en trabajos previos (19,20). Esto último ha sido reportado de manera contradictoria. Algunos autores han constatado una disminución del daño oxidativo a lípidos asociado a la monoterapia y sugieren el seguimiento de índices redox como evaluadores del efecto terapéutico. Otros evidencian en niños y adultos un empeoramiento de los índices del estado redox en relación con el uso de los antirretrovirales y otros fármacos (19,20)..

En el estudio pudimos constatar que los 8 pacientes con TARVAE presentaban niveles medios de carga viral y conteo absoluto de linfocitos T CD4+ sin modificación en relación a

evaluaciones previas, no existían problemas de adherencia, baja incidencia de manifestaciones clínicas asociadas a la infección o al uso de la terapia (15 %), pero se reconoce alteración del estado redox en grado moderado. Por consiguiente se procedió a orientar la ingesta de productos vitamínicos y antioxidantes que se ofertan de manera gratuita a estos individuos así como mejorar la nutrición enriqueciendo los alimentos que se consuman con productos que contengan antioxidantes naturales. En los otros 4 pacientes que no toman tratamiento antirretroviral se pudo constatar que a pesar de los niveles bajos de carga viral y valores medios de conteo de absoluto de linfocitos T CD4+ que revelan inmunocompetencia se evidencia alteración también del estado redox aunque en grado leve.

La principal limitación del estudio lo constituye el tamaño de muestra analizada, que claramente afecta el análisis estadístico pero este constituye todo el universo de niños cubanos seropositivos al VIH de transmisión vertical en seguimiento en esta consulta.

Estos hallazgos pudieran constituir una evidencia que contribuye a relacionar la participación del EO ya no solo en el síndrome, sino también probablemente asociado a los efectos secundarios de la farmacoterapia utilizada en el tratamiento de la infección. La evaluación integral contribuye a esclarecer alguna de las alteraciones metabólicas observadas en los pacientes que son tratados con este tipo de medicamento. La evaluación del estado del balance redox en humanos ya sea en estado sano o relacionado con diferentes patologías resulta cada vez más interesante para el conocimiento de los fenómenos moleculares involucrados y en el reconocimiento de las pautas farmacológicas que pudieran atenuar los procesos de daño en beneficio de la salud. Lo que pudiera repercutir no solo en la prolongación de la vida en estos individuos sino también en el incremento de la calidad de esta.

El prevenir o reducir el EO resulta tarea de importancia en la condición VIH/sida, considerando como primer nivel de acción el suplementar de manera eficaz la deficiencia de antioxidantes. Consideramos que el presente estudio constituye un intento en la caracterización integral de los pacientes pediátricos infectados por VIH, incluyendo los índices del metabolismo oxidativo o balance redox. Los resultados de este trabajo y su interpretación pueden influir tanto en el manejo clínico como en el tratamiento de estos pacientes. Además de contribuir al conocimiento del comportamiento de estos indicadores con lo cual incentivar a la comunidad médica al empleo de este diagnóstico y aplicar terapias alternativas con el fin de mejorar la calidad de vida de la población VIH/sida pediátrica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39 (1): 44–84.
- 2- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth Ed. Oxford University Press, 2007.
- 3- Le Duocce V, Gerbein G, Rohr O, Chawrtz C. Molecular mechanisms of HIV persistence in the monocyte-macrophage lineage. *Retrovirology* 2010; 7:32.
- 4- Baeir-Bitterlich G, Fuchs D, Wachter H. Chronic immune stimulation, oxidative stress, and apoptosis in HIV infection. *Biochem Pharmacol* 1997 Mar;53(6):755-63.
- 5- Fortuny C. Infección por VIH en el niño. En: Gatell JM, Clotet B, Podzamczar D, Miró JM, editores. *Guía práctica del SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento*. 5ª ed. Barcelona: MASSON,SA; 1998: 494-527.
- 6- Resino S, Gurbindo D, Bellón JM, Sanchez-Ramón S, Muñoz-Fernández MA. Predictive markers of clinical outcome in vertically HIVP1 infected infants. A prospective longitudinal study. *Pediatr Res* 2000;47:509-15.
- 7- Church JA. HIV disease in children: The many ways it differs from the disease in adults. *Postgrad Med* 2000;107(4):163-82.
- 8- González I, Diaz JM, Verdasquera D, Pérez J. Prevención y Control de Transmisión Vertical del VIH en Cuba. *Rev. Chilena de Infectología* 2010; 27 (4): 320-6.
- 9- Riddles PW, Blakely RL, Zerner B. Reassessment of Ellman's reagent. *Methods Enzymol.* 1983; 91:49-60.
- 10- Erdelmeier I, Gerard MD, Yadan JC, Chaudiere J. Reactions of N methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxialkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 1998; 11(10): 1184-94.
- 11- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103–11.
- 12- Witko-Sarsat V, Friedlander M. Advanced oxidation protein product as novel mediators of inflammation and monocytes activation in chronic renal failure. *J Immunol* 1998; 161: 2524-32.
- 13- Beyer W, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Anal Biochem* 1987; 161: 559–66.
- 14- Clairborne A. Catalase activity. En: Green-Wald RA, ed. *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. Boca Ratón, FL: CRC Press Inc; 1986: 283-4.
- 15- Coaccioli S, Crapa G, Fantera M, Del Giorno R, Lavagna A, Standoli ML, Frongillo R, Biondi R, Puxeddu A. Oxidant/antioxidant status in patients with chronic HIV infection. *Clin Ter* 2010; 161(1):55-8.
- 16- Pasupthi P, Ramachandran T, Sindhu PJ, Saravanan G, Bakthavathsalam G. Enhanced oxidative stress markers and antioxidant imbalance in HIV infection and aids patients. *J SCi Res* 2009; 1 (2) 370-80.
- 17- Srinivas A, Dias BF. Antioxidants in HIV positive children. *Ind J Ped* 75; 2008: 347-50.
- 18- Padmanabhan V, Rai K, Hegde AM, Shetty S. Total antioxidant capacity of saliva in children with HIV. *J Clin Pediatr Dent* 2010; 34(4):347-50.
- 19- Mandas A, Luigi Iorio E, Congiu M.G, Balestrieri C, Mereu A, Cau D, Dessi S and Curreli N. Oxidative imbalance in HIV-1 infected patients treated with antiretroviral therapy. *J Biomed Biothechnol* 2009; Epub 749575.
- 20- Turchan-Cholewo J, Dimayuga, FO, Gupta S, Keller JN, Knapp PE, Hauser KF, Bruce-Keller AJ. Morphine and HIV-tat increase microglial free radical production and oxidative stress: possible role in cytokine regulation. *J Neurochem.* 2009; 108(1): 202–15.

Tabla 1. Características generales de las poblaciones estudiadas

Variables		Control	Niños (2011)
No		24	12
Edad (años)		8,2 ± 5,3	9,4 ± 5,71
Sexo	Masculino	14	6
	Femenino	10	6
Raza	Blanca	8	5
	Negra	8	3
	Mestiza	8	4
TEE (años)		-	7,3 ± 6,94

Leyenda: TEE, Tiempo de evolución de la enfermedad

Nota: No se encontró diferencia significativamente estadística $p > 0.05$ entre los grupos.

Tabla2. Indicadores de seguimiento de los pacientes pediátricos infectados por VIH

Pacientes	Edad en que se confirma Infectado por VIH	Edad en que se confirma SIDA	Parámetro de Diagnóstico	Clasificación	Carga Viral cp/mL	Tratamiento antirretroviral en el momento del estudio
2011	6 años (2) 2 años (4) <1 año (6)	7 años (3) 3 años (3) <1 año (6)	Enf O (6) CD4 (4) CV (2)	A1 (2) A3 (4) B1 (2) B3 (4)	Indetectable (3) < 1 000 copias (3) < 5 000 copias (6)	Sin Tratamiento (4) d4T + 3TC + NVP (4) ABC+ 3TC + EFV (1) d4T + 3TC + NVP (1) 3TC+ d4T+ NFV(2)

Leyenda: Parámetro de diagnóstico Enf O Enfermedades oportunistas, CV carga viral, CD4: % de linfocito T CD4+
 Clasificación: Severidad de los síntomas: A-ligeros B-moderados C-severos
 Estado inmunológico: 1-normal 2-moderado 3-severo

Tabla 3 Descripción de los variables evaluadas por período.

VARIABLES	Control	Grupo de pacientes VIH pediátricos (2011)
No de pacientes	24	12
Malonildialdehído (μM)	$2,35 \pm 0,62$	$3,31 \pm 0,29^a$
Potencial de peroxidación (μM)	$10,07 \pm 1,01$	$12,83 \pm 1,57^a$
Hidroperóxidos (μM)	$309,44 \pm 11,31$	$566,7 \pm 65,18^a$
Glutación (mg L^{-1})	$712,10 \pm 20,82$	$306,44 \pm 26,12^a$
Superoxido dismutasa (U mg^{-1} de hemoglobina x min)	$148,24 \pm 15,2$	$116,65 \pm 11,75^a$
Catalasa (U mg^{-1} de hemoglobina x min)	$2,1 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,8^a$
PAOP (μM Cloramina T)	$8,36 \pm 0,72$	$10,85 \pm 1,06^a$

Leyenda:

Media \pm DE

^a Representa diferencia significativa $p < 0,05$ entre los valores del diagnóstico y los controles.

No se encontraron diferencias en la comparación de ambos grupos de pacientes a los diferentes tiempos.

Tabla 4. Valores de corte para los índices de estado redox y grado de estrés oxidativo en los pacientes VIH pediátricos

Supuestamente sanos		MDA	PP	GSH	CAT	PAOP	HPO	SOD
N	Válidos	24	24	24	24	24	24	24
	Perdidos	0	0	0	0	0	0	0
	Media	2,30	6,75	1218,84	146,45	105,46	116,90	5,40
	Desv. típ.	0,40	0,32	217,98	26,21	3,43	3,50	0,16
Percentiles	90	3,07	7,04	1557,72	182,44	111,38	121,71	5,67
Pacientes pediátricos VIH+		Extensión del proceso de estrés oxidativo						
N	Válidos	12	12	12	12	12	12	12
	Perdidos	0	0	0	0	0	0	0
Pacientes (2011)		M-12	L-4 M-8	M-3 S-9	L-3 M-9	L-4 M-8	L-4 M-8	L-12

Leyenda:

Clasificación del grado en función del 90 percentil en población supuestamente sana

L, Leve; M, Moderado; S, severo

No se encontraron diferencias significativas en el análisis estadístico entre los periodos.

N -Número de pacientes

MDA Malonildialdehído, PP Potencial de peroxidación, GSH Glutatión, CAT Catalasa,

PAOP Productos avanzados de la oxidación de proteínas, HPO hidroperóxidos,

SOD Superóxido dismutasa

Tabla 5 Descripción de los parámetros bioquímicos y hematológicos por diagnóstico.

VARIABLES	Referencia	Control	Grupo de pacientes pediátricos (2011)
No de pacientes		24	12
Hemoglobina (g·L ⁻¹)	110-150	129,14 ± 9,35	125,92 ± 14,54
Velocidad de Sedimentación Globular (mm)	Hasta 20	7,71 ± 1,42	19,1 ± 5,23 ^{a,b}
Leucocitos (U·10 ³ ·mm ⁻³)	4-10	9,65 ± 1,5	7,25 ± 1,66 ^a
Polimorfonucleares (%)	35-45	48,62 ± 7,92	50 ± 14
Linfocitos (%)	55-65	42,43 ± 4,71	42 ± 13,4
Monocitos (%)	0-10	2,43 ± 0,71	7,42 ± 1,78 ^a
Carga viral (cp/mL)	-	-	3561,33 ± 627,55 ^b
Linfocitos T CD4+ (cel/mm ³)	900-2860	1536,80 ± 304,56	815,4 ± 577,6 ^{a,b}

Leyenda:

Media ± DE

^a Representa diferencia significativa p<0,05 entre los valores del diagnóstico y el control.

^b Representa diferencia significativa p<0,05 entre los valores de los grupos de pacientes en los diferentes periodos.

Tabla 6. Análisis de correlación entre variables estudiadas.

Índices	Factor independiente	
	Carga viral	CD4
MDA	0,020*	-0,213
HPO	0,174**	-0,282
PAOP	0,075	- 0,156
CAT	0,189*	-0,253
SOD	0,082	-0,102
GSH	- 0,098*	0,230
PP	0,223	- 0,072*

Leyenda:

MDA Malonildialdehído, PP Potencial de peroxidación, GSH Glutación, CAT Catalasa, PAOP Productos avanzados de la oxidación de proteínas, HPO hidroperóxidos, SOD Superóxido dismutasa

* p<0,05; ** p<0,01