

# Niveles séricos de óxido nítrico y malondialdehído

## en sujetos con IgM positiva para el virus del herpes simplex

**Palabras clave:** Herpes virus, HSV-1, HSV-2, lipoperoxidación, MDA, óxido nítrico, estrés oxidativo, estrés nitrosante.

**Key words:** Herpes virus, HSV-1, HSV-2, lipid peroxidation, MDA, nitric oxide, nitrosative stress, oxidative stress.

Recibido: 20/02/2008  
Aceptado: 28/02/2008

José Gutiérrez-Salinas,\* Leticia Cruz-Tovar\*

\* Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, División de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional, "20 de Noviembre", ISSSTE.

Correspondencia:  
Dr. José Gutiérrez Salinas,  
Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental,  
División de Investigación Biomédica,  
Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE,  
San Lorenzo Núm. 502, 2º piso,  
Col. Del Valle, 03100 México, D.F.  
Tel.: 5200-5003, ext. 14603  
Fax: 5559-3256.  
E-mail: quauhtlicutli@yahoo.com

111

## Resumen

**Antecedentes:** La infección por herpes virus simplex (HSV) puede ocasionar diversas alteraciones metabólicas en el ser humano. Datos experimentales con modelos *in vitro* e *in vivo* demuestran que existe estrés oxidativo y estrés nitrosante provocados por la infección con HSV; sin embargo, este tipo de datos no son conocidos para el ser humano que presenta una infección actual por este tipo de virus. **Objetivo:** Determinar la concentración de malondialdehído (MDA) y nitratos totales (NOx) como índices de estrés oxidativo y estrés nitrosante, respectivamente, en sujetos con IgM positiva para HSV. **Material y métodos:** Se analizó el suero de 18 sujetos que presentaron IgM positiva para HSV. Como grupo control se tomaron 20 muestras de suero de sujetos negativos a HSV. Se determinó la concentración sérica de MDA y NOx por métodos espectrofotométricos. **Resultados:** El promedio  $\pm$  error estándar del index sérico de IgM en sujetos con HSV fue de  $1.767 \pm 0.748$ . La concentración de MDA fue mayor en los sujetos con HSV en comparación con los controles ( $2.337 \pm 0.4676$  vs  $0.5773 \pm 0.0301$ ;  $p < 0.05$ , respectivamente), al igual que las concentraciones de NOx ( $76.32 \pm 6.206$  vs  $37.04 \pm 1.073$ ;  $p < 0.05$ , respectivamente).

## Abstract

**Background:** Herpes simplex virus (HSV) infection it can produce is able give rise to diverse metabolic alterations in the human being. *In vitro* and *in vivo* experimental research shows that both, oxidative and nitrosative stress are developed by HSV infection. However, the latter is not known in humans that present an infection with this virus. **Objective:** The aim of this study was to determine both malondialdehyde (MDA) and total nitrates (NOx) as indicative of an oxidative stress and nitrosative stress, in patients with positive IgM for HSV virus. **Material and methods:** Eighteen serum samples from subjects with an IgM positive for HSV were analyzed. As control, serum from 20 normal subjects HSV negative was used. Both MDA and NOx were analyzed in all serum samples by spectrophotometric techniques. **Results:** The mean  $\pm$  SEM of IgM index in serum of subjects with HSV was  $1.767 \pm 0.748$ . The MDA concentration was highly in the subjects infected with HSV as compared with controls ( $2.337 \pm 0.4676$  vs  $0.5773 \pm 0.0301$ ,  $p < 0.05$  respectively). By the same way, NOx concentration was greater in HSV-infected subjects as compared with controls ( $76.32 \pm 6.206$  vs  $37.04 \pm 1.073$ ;  $p < 0.05$ , respectively).

± 1.073;  $p < 0.05$ , respectivamente). Se encontró una correlación positiva entre el index de IgM y las concentraciones de MDA y NOx en los sujetos con HSV. **Conclusiones:** Nuestros resultados demuestran que los sujetos con IgM positiva para HSV presentan un incremento de MDA y NOx que indican estrés oxidativo junto con estrés nitrosante.

< 0.05, respectively). A significant positive correlation between IgM index and MDA and IgM index and NOx was shown in HSV-infected subjects. **Conclusion:** The IgM-positive for HSV have an increase in both MDA and NOx metabolites indicative of a oxidative and nitrosative stress.

## Introducción

**E**l virus herpes simplex (HSV) es un tipo de virus que pertenece a la familia *Herpesviridae*, los cuales son un grupo de ADN virus del que existen dos variedades antigenicas llamadas herpes virus simplex 1 (HSV-1) y herpes virus simplex 2 (HSV-2).<sup>1-4</sup> En esta familia, además de los HSV-1 y HSV-2, existen varios tipos de virus como son el Epstein-Barr, el citomegalovirus y el de la varicela-zoster, entre otros, los cuales infectan comúnmente al ser humano.<sup>1-4</sup>

La forma de transmisión del HSV es por contacto directo con secreciones contaminadas ya sean éstas de origen oral (para el virus HSV-1) o genital (para el virus HSV-2), por lo que algunos epidemiólogos los consideran como la principal causa de enfermedad de transmisión sexual causada por un virus.<sup>1-7</sup>

De acuerdo con las encuestas epidemiológicas, en Estados Unidos se ha estimado que 57% de la población adulta ha sido infectada con HSV-1 y 17% con HSV-2.<sup>4-7</sup> En nuestro país se ha calculado una incidencia de siete casos por cada 100,000 habitantes, aunque las cifras reales no se conocen con precisión.<sup>8,9</sup>

Una vez que HSV-1 y/o HSV-2 infectan al ser humano, permanecen en forma latente durante toda la vida del sujeto. La infección primaria puede ser devastadora para el recién nacido, así como para los sujetos inmunocomprometidos en los cuales pueden presentarse complicaciones como encefalitis, hepatitis, neumonía, esofagitis y queratitis.<sup>1,2,5,6</sup> Sin embargo, en el general de la población, una infección primaria o reactivación de la misma se manifiesta clínicamente de manera

relativamente inocua e incluso puede pasar desapercibida.<sup>1,2,5,6</sup>

Actualmente, ha sido reportado que existe un aumento importante de sujetos que presentan reactivación de la infección provocada por algún virus de la familia *Herpesviridae*, principalmente por HSV 1 y 2. Esto es debido en parte a que en los últimos tiempos ha existido un incremento importante en el uso de medicamentos inmunosupresores (en el caso de los pacientes que han sido trasplantados con algún órgano o tejido) o antineoplásicos (que destruyen al tejido linfoide). Además, existe una gran cantidad de personas que se encuentran inmunocomprometidas como es el caso de los enfermos de SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) y los niños prematuros.<sup>5,6,10-13</sup> Por otro lado, sujetos aparentemente sanos y que son candidatos a ser donadores de algún tipo de órgano pueden presentar una infección latente por este tipo de virus, por lo que deben ser detectados antes de realizar cualquier tipo de procedimiento quirúrgico.<sup>5,6,10-13</sup>

La primoinfección o reactivación de la infección por HSV puede pasar desapercibida clínicamente hablando, por lo que su diagnóstico y tratamiento adecuado llegan a ser tardíos. Es por ello que la detección de anticuerpos séricos específicos del tipo IgG e IgM pueden ser un gran auxiliar diagnóstico y se considera, para el caso de la infección con HSV, que un incremento en la concentración sérica de IgM es indicativo de que el sujeto padece una infección actual por este tipo de virus.<sup>1,2,4-6,12,13</sup>

Ha sido descrito que una infección viral puede provocar una respuesta metabólica en el huésped caracterizada por la acumulación de radica-

les libres derivados del oxígeno y/o nitrógeno.<sup>14-18</sup> Los radicales libres se definen como especies químicas que presentan un electrón desapareado en su orbital más externo, por lo que son altamente reactivos a moléculas vecinas. En los seres vivos, los radicales libres provienen principalmente del oxígeno o del nitrógeno (por lo que son llamados radicales libres derivados del oxígeno o del nitrógeno, respectivamente) y pueden dañar lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos.<sup>19-21</sup> La célula posee varios tipos de mecanismos antioxidantes, los cuales evitan o minimizan el daño provocado por los radicales libres.<sup>19-21</sup> Cuando en la célula existe un aumento en la formación de radicales libres o una disminución en los mecanismos antioxidantes, se produce una condición llamada estrés oxidativo y/o estrés nitrosante, en donde el daño a las macromoléculas puede ocasionar la muerte de la célula o el tejido.<sup>19-26</sup>

El estrés oxidativo se caracteriza principalmente por el daño a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares. Cuando los radicales libres reaccionan con ellos, se produce un metabolito final conocido como malondialdehído (MDA), el cual se determina en el laboratorio como indicador de estrés oxidativo.<sup>22,23,26</sup> Por otro lado, un estrés nitrosante se caracteriza por un exceso en la producción de óxido nítrico (NO, por sus siglas en inglés) que es el principal radical libre derivado del nitrógeno.<sup>21,22,24,26</sup> El NO reacciona rápidamente con las moléculas de su entorno, lo que produce nitratos y nitritos como metabolitos finales que, determinados en conjunto en el laboratorio, se conocen como nitratos totales (NOx) y son considerados como marcadores de estrés nitrosante.<sup>21-26</sup> Si las condiciones metabólicas lo permiten, puede desarrollarse un estrés oxidativo junto con un estrés nitrosante, tal como ha sido descrito para diversas patologías en donde el sistema inmune juega un papel importante como es el caso de enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide y lupus eritematoso),

e infecciones por parásitos (enfermedad de Chagas), bacterias (sepsis) o virus (SIDA, hepatitis viral, dengue).<sup>26</sup>

Experimentos hechos *in vitro* e *in vivo* han demostrado que se genera un estrés oxidativo/nitrosante cuando se exponen cultivos celulares o se infectan animales de laboratorio con virus HSV;<sup>5,6,14,15,27,28</sup> sin embargo, no existen reportes en humanos que señalen si existe una relación entre la infección con este tipo de virus y la presencia de un estrés oxidativo/nitrosante.

Por todo lo anterior, el propósito del presente trabajo fue determinar los niveles séricos de malondialdehído (MDA) y nitratos totales (NOx) como indicadores de estrés oxidativo y estrés nitrosante, respectivamente, en sujetos que presentan una infección actual por virus HSV indicada por sus niveles séricos de IgM.

## Material y métodos

Se realizó un estudio en 18 muestras de sueros provenientes del Laboratorio de Virología que pertenece al Laboratorio de Pruebas Especiales del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE, recolectadas en el periodo de diciembre del 2007 a febrero del 2008. La cantidad de sueros corresponden a igual número de pacientes, de los cuales 12 (66.66%) fueron del género femenino, con un promedio general ( $\pm$  error estándar: EE) de edad de  $43.42 \pm 3.31$  años (rango: 27-59).

Las muestras fueron elegidas por presentar reactividad para anticuerpos tipo IgM contra HSV (tipo 1 y 2) cuantificando la concentración de anticuerpos específicos por medio de una técnica indirecta de quimioluminiscencia con micropartículas paramagnéticas unidas a antígeno específico y haciendo la detección en un aparato de análisis automático robotizado con detector de flash modelo Liaison (NS: 2229001745; DiaSorin S.p.A., Vercelli, Italia), empleando el kit de reactivos correspondientes y siguiendo las instruccio-

nes proporcionadas por el fabricante sin diferenciar la presencia de anticuerpos IgM contra HSV-1 y HSV-2. Se consideró un valor (index)  $> 1.1$  como punto de corte para definir una infección actual por HSV-1 y HSV-2.<sup>29-32</sup>

Como grupo control se empleó el suero proveniente de 20 sujetos aparentemente sanos que acudieron como donadores voluntarios al banco de sangre de nuestra institución. Los sujetos fueron de ambos sexos (10 hombres y 10 mujeres) con edad promedio general ( $\pm$  EE) de  $30.35 \pm 2.2$  años (rango: 18-45) y que no presentaron niveles detectables de inmunoglobulinas específicas para HSV-1 y HSV-2 en el estudio serológico. Todos los procedimientos fueron hechos de acuerdo con las Normas y Procedimientos Generales de Laboratorio para el Análisis de Muestras Humanas avalado por nuestra institución.

**Determinación de malondialdehído.** La concentración de malondialdehído (MDA) fue determinada en todas las muestras de suero por medio de la técnica de reacción del ácido tiobarbitúrico descrita por Ohkawa y colaboradores<sup>33</sup> modificada por Gutiérrez-Salinas y asociados.<sup>19</sup> y Ramírez-Farías y su grupo.<sup>34</sup> Brevemente, se procede como sigue:  $200 \mu\text{L}$  de suero se hicieron reaccionar con  $1.5 \text{ mL}$  de ácido acético (20%),  $1.5 \text{ mL}$  de ácido tiobarbitúrico (0.8%) y  $0.6 \text{ mL}$  de agua bidestilada. La mezcla se colocó en un recipiente con agua a ebullición por 60 minutos. Al término de la incubación, las muestras fueron enfriadas en agua-hielo y se les agregó  $1 \text{ mL}$  de KCl (2% p/v) y  $5 \text{ mL}$  de una mezcla de butanol/piridina (15:1 v/v), mezclando en bortex y centrifugando a 2,000 rpm por 10 minutos. La interfase superior fue recolectada y leída a 532 nm en un espectrofotómetro (Jaenway 6300, Cielovista Cal. USA) y calculando la concentración de MDA usando su coeficiente de extinción ( $1.54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) y expresándola como nanomol por mililitro.<sup>19,33,34</sup>

**Determinación de óxido nítrico.** La concentración sérica de óxido nítrico fue determinada

tomando en cuenta la cantidad total de nitratos (NOx) presentes en las muestras de acuerdo con la técnica reportada por Cortas y Wakid<sup>35</sup> modificada por Gutiérrez-Salinas y colaboradores.<sup>36</sup> A grandes rasgos, se procedió como sigue:  $0.5 \text{ mL}$  de suero fueron desproteinizados, mezclándolos con  $2 \text{ mL}$  de  $\text{ZnSO}_4$  (75 mM) y  $2.5 \text{ mL}$  de  $\text{NaOH}$  (55 mM) en agitación vigorosa. La mezcla fue centrifugada (10,000 rpm por 15 minutos, 4 °C) y el sobrenadante fue recuperado para determinar la cantidad de nitratos totales (NOx). Se tomó  $1 \text{ mL}$  de sobrenadante y se le agregó  $1 \text{ mL}$  de amortiguador de glicina- $\text{NaOH}$  (glicina 0.2 M disuelta en agua bidestilada, ajustando el pH a 9.7 con  $\text{NaOH}$  2 M);  $4 \text{ mL}$  de agua bidestilada y gránulos de cadmio activados de acuerdo con lo descrito por Cortas y Wakid.<sup>35</sup> Despues de 90 minutos de incubación, se tomaron  $2 \text{ mL}$  de reactante para mezclarlos con el reactivo de Griess (sulfanilamida 5%, N-naptiletilen diamina 0.2%, HCl 0.4 N), leyendo el resultado a 545 nm y calculando la concentración de NOx a partir de una curva patrón hecha con  $\text{NaNO}_3$  y expresando la concentración en el rango micromolar.<sup>35,36</sup>

**Análisis estadístico.** Los resultados fueron agrupados por género y expresados como promedios  $\pm$  error estándar (EE) usando para su análisis el programa estadístico GraphPad Prism V-4 (GraphPad Software Inc., San Diego Cal. USA) aplicando una prueba de "t" de Student con corrección de Welch.<sup>37</sup> La asociación entre variables fue realizado por medio del coeficiente de relación de Pearson. Para todas las pruebas fue considerado un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo.

## Resultados

**Características generales de la población y niveles séricos de IgM.** Los sujetos pertenecientes al grupo control presentaron un promedio de edad general de  $30.35 \pm 2.2$  años (rango: 18-45). Cincuenta por ciento ( $n = 10$ ) de su pobla-

ción fue del género femenino con edad promedio de  $30.38 \pm 3.26$  años, mientras que el grupo masculino presentó un promedio de edad de  $30.33 \pm 3.15$  años (*cuadro I*).

Por su parte, el grupo de sujetos que presentó en su suero IgM positiva para HSV (grupo HSV positivo) tuvo un promedio de edad general ( $\pm$  EE) de  $43.42 \pm 3.31$  años (rango: 27-59). En este grupo, el género femenino representó 66.66% ( $n = 12$ ) de la población con edad promedio ( $\pm$  EE) de  $39.67 \pm 3.4$  años y el género masculino ocupó 33.34% ( $n = 6$ ) con edad promedio de  $54.67 \pm 3.8$  años. Esta diferencia en el promedio de edades entre ambos grupos es estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) (*cuadro I*).

En el caso del grupo HSV positivo, el origen del servicio hospitalario fue el siguiente: nueve sujetos (50%) provenían del Servicio de Hematología, cuatro (22.22%) de gastroenterología; dos (11.11%) de perinatología y un sujeto (5.55%) de cada uno de los siguientes Servicios: Admisión Externa, Inmunología y Otorrinolaringología. El promedio general del index sérico de IgM fue de  $1.767 \pm 0.176$  (rango: 1.17 a 3.60). Al agrupar los resultados por género, se observó que el grupo femenino presentó un promedio

mayor, estadísticamente significativo en su concentración sérica de IgM específica para HSV en comparación con el grupo masculino ( $1.885 \pm 0.25$  vs  $1.532 \pm 0.14$ ;  $p < 0.05$ ; respectivamente) (*cuadro I*).

#### Concentraciones séricas de MDA y NOx.

En la *figura I* se muestra el promedio de las concentraciones séricas de MDA (*figura I-A*) y de NOx (*figura I-B*) que presentaron los sujetos del grupo control y HSV positivo.

Como lo muestra la *figura I-A*, el grupo HSV positivo presenta una concentración mayor, estadísticamente significativa, en los niveles de MDA comparadas con los del grupo control ( $2.337 \pm 0.4676$  vs  $0.5773 \pm 0.0301$ ;  $p < 0.01$ , respectivamente). Además, cuando la concentración de MDA en los sujetos HSV positivo se agrupa por género, se observa que existe una mayor concentración de MDA en el grupo femenino en comparación con el masculino ( $2.853 \pm 0.6571$  vs  $1.306 \pm 0.1058$ ;  $p < 0.05$ ). Por su parte, en el grupo control no se presentó dicha diferencia entre géneros (*cuadro II*).

Tal como se mencionó con anterioridad, la *figura I-B* muestra el promedio de la concentración sérica de NOx determinada en los grupos control y HSV

**Cuadro I.** Características generales de los sujetos del grupo control y herpes virus simplex (HSV) positivos que se incluyeron en el estudio.

|                  | Grupo            |                    |
|------------------|------------------|--------------------|
|                  | Control          | HSV positivo       |
| Total de sujetos | 20               | 18                 |
| Femenino (n)     | 10               | 12                 |
| Edad (años)      | $30.38 \pm 3.26$ | $39.67 \pm 3.4$    |
| IgM (index)      | —                | $1.885 \pm 0.25$   |
| Masculino (n)    | 10               | 6                  |
| Edad (años)      | $30.33 \pm 3.15$ | $54.67 \pm 3.8^*$  |
| IgM (index)      | —                | $1.532 \pm 0.14^*$ |

Los resultados fueron agrupados por género y se presentan como promedios  $\pm$  E.E. \*  $p < 0.05$  vs femenino dentro de su propio grupo general.

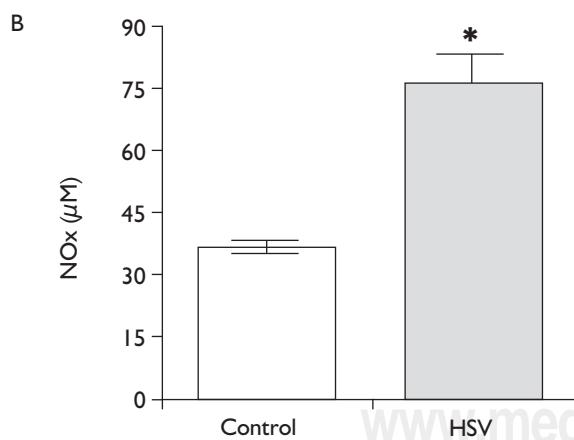
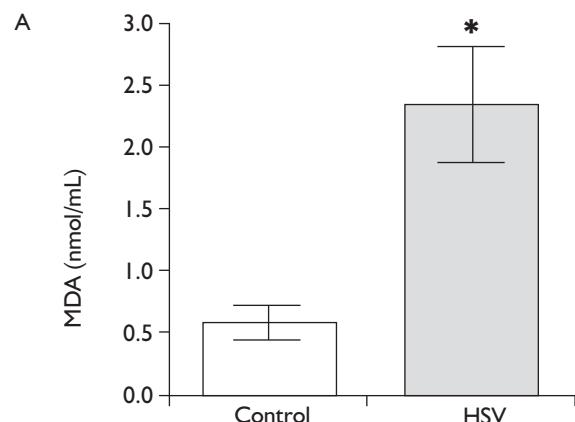
**Cuadro II.** Concentración sérica de malondialdehído (MDA) y nitratos totales (NOx) en el grupo control y el grupo herpes virus simplex (HSV) positivo distribuidos por género.

|                | Género            |                    |
|----------------|-------------------|--------------------|
|                | Femenino          | Masculino          |
| Control        |                   |                    |
| n              | 10                | 10                 |
| MDA (nmol/mL)  | $0.589 \pm 0.046$ | $0.565 \pm 0.041$  |
| NOx ( $\mu$ M) | $37.88 \pm 1.619$ | $36.20 \pm 1.443$  |
| HSV positivo   |                   |                    |
| n              | 12                | 6                  |
| MDA (nmol/mL)  | $2.853 \pm 0.66$  | $1.306 \pm 0.11^*$ |
| NOx ( $\mu$ M) | $80.98 \pm 8.98$  | $67.01 \pm 3.46^*$ |

Los datos están expresados como promedio  $\pm$  error estándar.  
\*  $p < 0.05$  vs femenino.

positivo. Se observa que el grupo HSV positivo presentó mayor concentración sérica de NOx en comparación con el grupo control ( $37.04 \pm 1.073$  vs  $76.32 \pm 6.206$ ;  $p < 0.05$ , respectivamente).

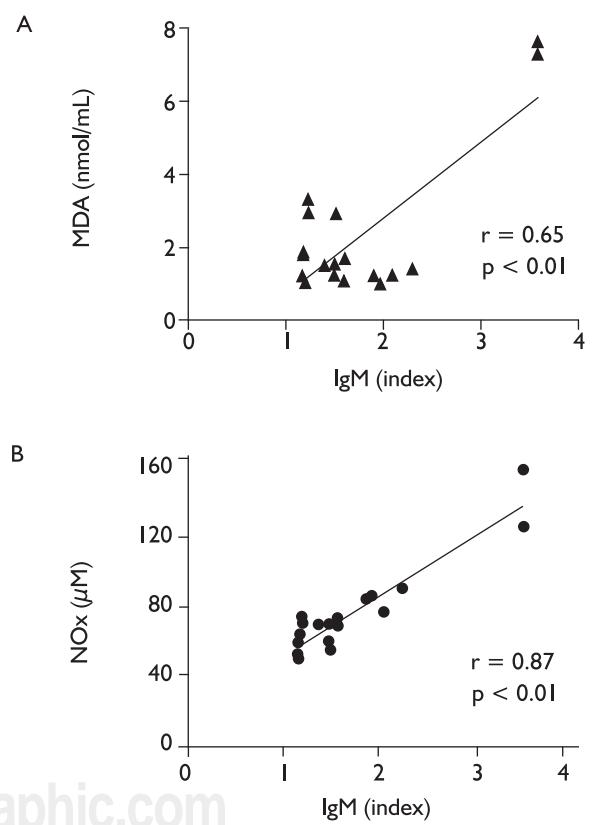
Al analizar por género los resultados de cada uno de los grupos, encontramos que existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre el género femenino y el masculino en el grupo HSV positivo ( $80.98 \pm 8.98$  vs  $67.01 \pm 3.46$ , respectivamente), lo cual no se observó en el grupo control (cuadro II).



**Figura 1.** Concentración sérica de malondialdehído (MDA) [A] y nitratos totales (NOx) [B] en el grupo control (barras blancas) y el grupo herpes virus simplex (HSV) positivo (barras grises). Los datos se presentan como promedios  $\pm$  error estándar. de 18-20 muestras. \*  $p < 0.05$  vs control.

**Correlación IgM con MDA y NOx.** La figura 2 muestra las gráficas de regresión lineal construidas tomando en cuenta el index sérico de IgM y las concentraciones séricas de MDA (figura 2-A) y NOx (figura 2-B) que se encontraron en los sujetos HSV positivos.

En ambos casos, existe una correlación positiva directamente proporcional entre el index de IgM y las concentraciones séricas de MDA y NOx. Además, dicha correlación fue más estrecha entre el index de IgM y las concentraciones séricas de NOx ( $r = 0.87$ ;  $p < 0.01$ ) en comparación con el MDA ( $r = 0.65$ ;  $p < 0.01$ ).



**Figura 2.** Gráficas de regresión lineal que ilustra la correlación entre la concentración (index) sérica de IgM de los sujetos herpes virus simplex (HSV) positivos y la concentración sérica de malondialdehído (MDA) [A] y nitratos totales (NOx) [B], respectivamente.

## Discusión

Tomando en cuenta los niveles séricos de IgM encontrados en los sujetos HSV positivos y comparándolos entre géneros, observamos que el género femenino fue el que presentó los mayores niveles de IgM en comparación con el masculino. Aun cuando nuestra muestra total de sujetos HSV positivos es pequeña (18 muestras), los anteriores resultados concuerdan con lo reportado por otros investigadores que señalan que, en nuestro medio, el género femenino predomina sobre el masculino en la infección por HSV.<sup>4,9</sup> Del mismo modo, en el grupo HSV positivo se encontró que la diferencia de edades entre géneros es estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ), lo que indica que las mujeres que presentan una infección actual por HSV son más jóvenes en comparación a los hombres. Lo anterior está de acuerdo con lo reportado por otros investigadores que señalan que, en la población general, las mujeres presentan seroprevalencia para el virus HSV, así como mayor reactivación de la infección, a una menor edad en comparación a los hombres.<sup>1-6</sup>

En concordancia con lo anterior, el género femenino mostró tener una concentración sérica de MDA y NOx mayores en comparación con el género masculino cuando se presenta una infección por HSV (*cuadro II*). Si bien es cierto que todos los sujetos del grupo HSV positivo mostraron niveles séricos de MDA y NOx mayores a los del grupo control, el género femenino presentó dichos metabolitos en mayor cantidad en comparación con el grupo masculino (*cuadro II*), lo que indica que en ellas existe un estrés oxidativo y un estrés nitrosante más severo y, por lo tanto, pueden presentar mayor daño a su organismo.

En modelos experimentales desarrollados *in vitro* e *in vivo* ha sido demostrado que la infección con virus HSV (tipo 1 y/o 2) produce alteraciones metabólicas que desencadenan un exceso en la producción de radicales libres derivados del

oxígeno y del nitrógeno, lo que produce estrés oxidativo y estrés nitrosante respectivamente, caracterizados por el exceso en la cantidad de MDA y NOx presentes en las células y/o los tejidos.<sup>5,6,14,15,27,28</sup> La acumulación de los anteriores metabolitos tanto en células como en los tejidos son indicativos de un daño irreversible a las macromoléculas y a las funciones generales del organismo, contribuyendo de este modo a la fisiopatología de la infección viral.<sup>14,15,17,18,27,28,38,39</sup>

El mecanismo exacto por medio del cual se produce estrés oxidativo y/o estrés nitrosante durante una infección viral, no se conoce con precisión. Sin embargo, se ha hipotetizado que el estrés oxidativo puede ser indicador de daño a los tejidos, mientras que el estrés nitrosante es indicador de reacción en contra de la infección viral y que puede proteger a la célula del daño provocado por este tipo de microorganismos.<sup>14,15,38-41</sup>

Estudios hechos en cultivos de líneas celulares, así como en modelos con animales de experimentación han demostrado que, durante la fase aguda de una infección viral, se produce estrés oxidativo y estrés nitrosante que tienen diversas consecuencias tanto para el virus como para el huésped.<sup>14,15,38-41</sup> En el caso del estrés oxidativo, se considera que es un signo de daño a los componentes celulares, puesto que los radicales libres derivados del oxígeno producidos durante este tipo de condición metabólica, afectan a las proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos, lo que puede llegar a provocar la muerte de la célula por apoptosis (muerte celular programada).<sup>14,15,38-42</sup>

Por otro lado, la producción de óxido nítrico que predomina durante un estrés nitrosante puede ser un regulador muy importante de la respuesta inmune del organismo ante el ataque viral, tal como ha sido sugerido por algunos investigadores.<sup>14,15,38-42</sup> Lo anterior se basa en el hecho de que, cuando un virus busca establecerse en un huésped, los leucocitos de éste responden con

incremento en la producción de óxido nítrico que correlacionan con el aumento en inmunoglobulinas séricas.<sup>14,15,38-42</sup> Además, ha sido descrito que el ADN y el ARN virales son muy sensibles al ataque de los radicales libres, especialmente de los derivados del nitrógeno, lo cual puede acelerar su tasa de mutaciones y disminuir su replicación con la consecuente disminución de su virulencia.<sup>14,15,38-42</sup>

Por su parte, ha sido reportado que en humanos infectados con el virus del VIH, de la hepatitis C o del dengue, se presentan niveles elevados de NOx y MDA en sangre y otros líquidos corporales, lo que indica la instalación al mismo tiempo de un estrés nitrosante y un estrés oxidativo.<sup>14,15,38-42</sup> Lo anterior no es de extrañar, puesto que ambas condiciones metabólicas pueden convivir en un mismo sistema, ya que ha sido descrito que los radicales libres derivados del oxígeno pueden inducir la producción de radicales libres derivados del nitrógeno y viceversa.<sup>15,16,20-25,42</sup>

Nuestros resultados muestran que el estrés oxidativo y el estrés nitrosante que existe en los sujetos con HSV presentan una correlación positiva con los niveles séricos de IgM (figura 2), lo que significa que a mayor infección, mayor es el estrés metabólico que se desarrolla y, probablemente, mayor el daño producido por la infección.

## Conclusiones

Tomando en cuenta todo lo anteriormente dicho, podemos afirmar que los sujetos que presentan una infección actual por el virus HSV, denotada por sus altos niveles de IgM, presentan un incremento de MDA y NOx que indican el desarrollo y/o instalación al mismo tiempo de un estrés oxidativo y un estrés nitrosante. También es de señalar que el estrés oxidativo y el estrés nitrosante son más importantes en el sexo femenino en comparación al masculino, lo que indica una mayor susceptibilidad de las mujeres al daño provocado por este tipo de virus.

## Agradecimientos

A la QFB Ana María González Cardel (Laboratorio de Virología) y a la QFB Sara R. Juárez Enríquez, jefa del Laboratorio de Pruebas Especiales del CMN “20 de Noviembre”, por su ayuda en la recolección y análisis inmunológico de las muestras de suero.

## Referencias

- Corey L, Spear PG. Infections with herpes simplex viruses. *N Engl J Med* 1986; 314: 686-691.
- Timbury MC, Edmond E. Herpesviruses. *J Clin Pathol* 1979; 32: 859-881.
- DeBolle L, Naesens L, DeClercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 217-245.
- Smith JS, Robinson J. Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1: A global review. *J Infect Dis* 2002; 186 (Suppl 1): S3-S28.
- Koelle DM, Corey L. Recent progress in herpes simplex virus immunobiology and vaccine research. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 96-113.
- Koelle DM, Corey L. Herpes simplex: Insights on pathogenesis and possible vaccines. *Annu Rev Med* 2008; 59: 381-395.
- Johnson RE, Nahmias AJ, Magdar LS, Lee CA. A seroepidemiologic survey of the prevalence of herpes simplex virus type 2 infection in the United States. *N Engl J Med* 1990; 321: 7-12.
- Conde-Gonzalez CJ, Juarez-Figueroa L, Uribe-Salas F, Hernandez-Nevarez P, Schmid DS. Analysis of herpes simplex virus I and 2 infection in women with high risk sexual behaviour in México. *Int J Epidemiol* 1999; 28: 571-576.
- Conde-González CJ, Lazzcano-Ponce E, Hernández-Girón C, Juárez-Figueroa L, Schmid JS. Seroprevalencia de la infección por el virus herpes simplex tipo 2 en tres grupos poblacionales de la ciudad de México. *Sal Pub Mex* 2003; 45 (supl) 5: S608-S616.
- Barba EJR. Citomegalovirus y trasplante renal: Una combinación peligrosa. *Rev Mex Patol Clin* 2006; 53: 52-61.
- Griffiths PD, Clark DA, Emery VC. Betaherpesvirus in transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 29-34.
- Stamm WE, Handsfiel HH, Rompalo AM, Ashely RL, Roberts PL. Association between genital ulcer disease and acquisition of HIV infection in homosexual men. *J Am Med Assoc* 1988; 260: 1429-1433.
- Hook EW, Cannon RQ, Nahmias AJ, Lee FF. Herpes simplex virus infection as a risk factor for HIV infection in heterosexuals. *J Infect Dis* 1992; 165: 251-255.
- Shoshkes RC, Komatsu T. Does nitric oxide play a critical role in viral infections? *J Virol* 1998; 72: 4547-4551.
- Hasan-Zaki M, Akuta T, Akaike T. Nitric oxide-induced nitritative stress involved in microbial pathogenesis. *J Pharmacol Sci* 2005; 98: 117-129.
- Elbim C, Pillet S, Prevost MH, Preira A, Girard PM. Redox and activation status of monocytes from human immunodeficiency virus-infected patients: relationship with viral load. *J Virol* 1999; 73: 4561-4566.

17. Alland JP, Afhdassi E, Chau E, Salit I, Walmsley S. Oxidative stress and plasma antioxidant micronutrients in humans with HIV infection. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 143-147.
18. Jiang Y, Scofiel VL, Yan M, Qiang W, Liu N, Reid AL. Retrovirus-induced oxidative stress with neuroimmunodegeneration is suppressed by antioxidant treatment with a refined monosodium alpha-lumino (Galavit). *J Virol* 2006; 80: 4557-4569.
19. Gutiérrez-Salinas J, Morales-González JA. La ingesta de fluoruro de sodio produce estrés oxidativo en la mucosa bucal de la rata. *Rev Mex Cien Farm* 2006; 37: 11-22.
20. Gutiérrez-Salinas J, Morales-González JA. Producción de radicales libres derivados del oxígeno y el daño al hepatocito. *Med Int Mex* 2004; 20: 287-295.
21. Gutiérrez-Salinas J. ¿Qué sabe usted acerca de radicales libres? *Rev Mex Cien Farm* 2006; 37: 69-73.
22. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986; 246: 501-514.
23. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: Reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997; 43: 1209-1214.
24. Toda N, Okamura T. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 271-324.
25. Tarpey MM, Fridovich I. Methods off detection of vascular reactive species. Nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide and peroxynitrite. *Circ Res* 2001; 89: 224-236.
26. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006; 52: 601-623.
27. Sheridan PA, Beck MA. The immune response to herpes simplex virus encephalitis in mice is modulated by dietary vitamin E. *J Nutr* 2008; 138: 130-137.
28. Palú G, Biasolo MA, Sartor G, Masotti L, Papini E. Effects of herpes simplex virus type I infection on the plasma membrane and related functions of HeLa S-3 cells. *J Gen Virol* 1994; 75: 3337-3344.
29. Marin J, Kese D, Potocnik M, Butina R. Laboratory diagnosis of herpesviruses. *Acta Dermatovenerol APA* 2000; 9: 1-7.
30. Dobec M, Bossart W, Kaeppli F, Mueller-Schoop J. Serology and serum DNA detection in shingles. *Swiss Med Wkly* 2008; 138: 47-51.
31. Quinlivan M, Breuer J. Molecular studies of varicella zoster virus. *Rev Med Virol* 2006; 16: 225-250.
32. Dickerson FB, Boronow JJ, Stalling C, Origoni AE, Ruslanova I, Yolken RH. Association of serum antibodies to herpes simplex virus I with cognitive deficits in individuals with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 466-472.
33. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
34. Ramírez-Farías C, Madrigal-Santillán E, Gutiérrez-Salinas J, Rodríguez-Sánchez N, Martínez-Cruz M, Valle-Jones I et al. Protective effect of some vitamins against the toxic action of ethanol on liver regeneration induced by partial hepatectomy in rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 899-907.
35. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 38: 1440-1443.
36. Gutiérrez-Salinas J, Cruz-Tovar L, García-Méndez S. Incremento en la concentración de óxido nítrico y meta-hemoglobina en eritrocitos contenidos en bolsas para transfusión sanguínea. *Rev Mex Patol Clin* 2008; 55: 21-28.
37. von Müller L, Klemm A, Weiss M, Shneider M. Active cytomegalovirus infection in patients with septic shock. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1517-1522.
38. Muller F. Reactive oxygen intermediates and human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Fre Rad Biol Med* 1992; 13: 651-657.
39. Maeda H, Akaike T. Oxygen free radicals as pathogenic molecules in viral diseases. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991; 198: 721-727.
40. Sanders SP, Siekiersi ES, Portes JD, Richards SM, Proud D. Nitric oxide inhibits rhinovirus-induced cytokine production and viral replication in a human respiratory epithelial cell line. *J Virol* 1998; 72: 934-942.
41. Akaike T, Fujii S, Kato A, Yoshitake J, Miyamoto Y, Sawa T. Viral mutation accelerated by nitric oxide production during infection *in vitro*. *FASEB J* 2000; 4: 1447-1454.
42. Peterhans E. Oxidants and antioxidants in viral diseases: Mechanisms and metabolic regulations. *J Nutr* 1997; 127: 962S-965S