

Indicadores del estrés oxidativo en pacientes afectados por VIH/sida con manifestaciones reumatológicas

Oxidative stress indicators for HIV/AIDS patients with rheumatologic manifestations

Dra. Olga Pomier Suárez,^I Dra. Lizette Gil del Valle,^I Dr. Francisco Rodríguez Delgado,^I Dra. Lizeth del R. Huetes Meza,^{II} Dra. Alina Alerm González,^{III} Téc. Yusimit Bermúdez Alfonso,^I Dr. Juan Carlos Millán Marcelol

^I Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). La Habana, Cuba.

^{II} Centro de Investigaciones Clínicas del Sur. San Cristóbal de las Casas, México.

^{III} Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas (ICBP) "Victoria de Girón". Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el estrés oxidativo se ha reconocido como cofactor en la progresión de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y en las manifestaciones reumatológicas.

Objetivo: valorar los indicadores del estrés oxidativo en los pacientes afectados por VIH con manifestaciones reumatológicas.

Métodos: se estudiaron 31 pacientes VIH con manifestaciones reumatológicas y se compararon los índices evaluados con un grupo control, 31 individuos aparentemente sanos. Los pacientes fueron clasificados según los siguientes criterios de actividad: escala de actividad de la enfermedad para manifestaciones reumatológicas, e índice de actividad de enfermedad y la escala visual analógica de dolor nocturno para manifestaciones reumatológicas. Las concentraciones plasmáticas de los indicadores de estrés oxidativo fueron cuantificadas mediante técnicas espectrofotométricas y el análisis estadístico realizado, mediante el programa estadístico SPSS 13.

Resultados: los pacientes VIH evaluados presentaron un estrés oxidativo de moderado a severo, caracterizado por aumento significativo de los parámetros indicadores de daño oxidativo y disminución de los sistemas antioxidantes ($p < 0,05$), con respecto a lo evaluado en un grupo de pacientes supuestamente sanos relacionado en edad y género. No se encontró significación estadística en los

estudios de asociación de las manifestaciones reumatológicas, el tiempo transcurrido desde el diagnóstico confirmado de la infección por el VIH y género, conteo de linfocitos T CD4+ ni la carga viral.

Conclusiones: los datos muestran que los indicadores del proceso de estrés oxidativo empleados en los pacientes afectados por VIH con manifestaciones reumatológicas, podrían ser útiles en su seguimiento y tratamiento.

Palabras clave: estrés oxidativo, VIH, especies reactivas del oxígeno, manifestaciones reumatológicas.

ABSTRACT

Introduction: the oxidative stress has been recognized as a cofactor in the progression of the human immunodeficiency virus (HIV) infection and in the rheumatologic manifestations.

Objective: to assess the oxidative stress indicators in those HIV patients with rheumatologic manifestations.

Methods: thirty one HIV patients with rheumatologic manifestations were studied and the evaluated indexes were compared to those of a control group made up of 31 apparently healthy individuals. The patients were classified according to the following activity criteria: scale of the disease activity for the rheumatologic manifestations, and index of disease activity and the analogical visual scale of pain at night in terms of the rheumatologic manifestations. The plasma concentrations of the oxidative stress indexes were measured by spectrophotometric techniques. Statistical analysis was made using SPSS 13 program.

Results: the evaluated HIV patients presented with moderate to severe oxidative stress, characterized by significant increase in the oxidative damage parameters and decrease in the antioxidizing systems ($p < 0.05$) after a comparison with those parameters of an apparently healthy control group in terms of age and gender. No statistically significance was found in the studies carried out to relate rheumatologic manifestations, time elapsed from the HIV confirmation, gender, CD4 lymphocyte T count and the viral load.

Conclusions: the collected data showed that the oxidative stress indicators could be useful in treating and following-up the HIV patients with rheumatologic manifestations.

Key words: oxidative stress, HIV, reactive oxygen species, rheumatologic manifestation.

INTRODUCCIÓN

La incidencia mundial de la infección con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) está calculada en 40,3 millones de personas. En América Latina el total de adultos y niños que vivieron con VIH en el 2010 fue de 3 millones (2,8 millones-3 millones) y de 380 000 (350 000-390 000) en el área del Caribe.¹ Cuba ha notificado desde 1986 de manera sistemática infectados con el virus y hasta el 2011 se habían informado 15 824 casos de VIH, particularmente concentrados en

La Habana donde hasta diciembre de 2010 se notificaron 6 396 casos confirmados con esta infección.²

La infección por VIH se considera como la pandemia de las últimas dos décadas, y la evolución de la enfermedad, en principio sin tratamiento, permitió que estos pacientes desarrollaran todo tipo de complicaciones principalmente infecciosas, algunas de las cuales tenían relación con el aparato articular.³⁻⁵

A partir de la aparición de la terapia antirretroviral de alta eficiencia (TARVAE), la historia de la infección cambió, ya que estos pacientes han alcanzado expectativas de vida iguales a las de los sujetos sanos.⁶⁻⁸

Varios síndromes reumáticos han sido reconocidos en pacientes infectados con VIH estando determinados por la infección misma, su evolución en el tiempo y la administración de tratamiento contra el VIH.⁹⁻¹¹

Estimados sobre la incidencia exacta de las manifestaciones reumatológicas en infectados por VIH varían considerablemente. Antes de la implementación de la terapia antirretroviral, estudios retrospectivos calcularon las tasas de complicaciones esqueléticas de un 1 a un 72 %.^{1,12-15} En la era de la TARVAE, las complicaciones reumatológicas han declinado significativamente pero continúan siendo prevalentes,^{16,17} con aun nuevas manifestaciones emergiendo.¹¹

Los mecanismos patogénicos involucrados en la aparición de las manifestaciones reumatológicas en la infección por VIH no están claros. La invasión viral directa, la activación policlonal de células B, y otros factores genéticos y ambientales, han sido sugeridos.^{9,12,13}

Muchas de las manifestaciones reumatológicas que están directamente asociadas con la infección por VIH muestran características similares a las descritas en individuos no infectados con este virus.^{4,14,15}

En el estudio y seguimiento de la infección por VIH se reconoce entre sus múltiples cofactores al estrés oxidativo (EO).¹⁸ Existen numerosas enfermedades donde al EO se le ha reconocido un papel fundamental en su génesis, como lo son las enfermedades cardiovasculares, Alzheimer, Parkinson, cáncer, artritis reumatoidea, enfermedad inflamatoria intestinal y sida, entre otros.¹⁹⁻²³

El organismo está sometido constantemente a la acción de las especies reactivas de oxígeno (ERO), de las cuales se protege gracias a un complejo sistema de defensa antioxidante. Para mantener la homeostasis de este sistema es necesario el reciclaje y síntesis de sustancias endógenas, de la ingesta adecuada de minerales (selenio, hierro, cobre, zinc, manganeso, entre otros), de vitaminas A, E, y C, las que van a depositarse en el citoplasma y en los lípidos de la membrana de las células y de micronutrientes en general, dentro de los cuales se incluyen algunos fotoquímicos de potencialidades antioxidantes. Mientras exista un balance adecuado entre oxidantes y antioxidantes, el organismo mantiene su funcionamiento celular normal; de existir un predominio oxidativo, el equilibrio se altera dando como resultados el EO, en el cual las células se ven afectadas tanto estructural como funcionalmente.^{19,21,22}

En la evaluación de indicadores de EO in vivo y en experimentos celulares in vitro relacionados con la infección por VIH se han obtenido evidencias de su implicación con la apoptosis de linfocitos T CD4+ (LTCD4), aumento de la replicación viral, activación crónica del sistema inmune, síndrome de desgaste, altos requerimientos de micro y macronutrientes y asociación del proceso a enfermedades oportunistas.¹⁷

Se conoce que las enfermedades articulares cursan también con alteraciones del balance redox del organismo,^{24,25} lo que impondría una nueva condición de daño en aquellos pacientes que viviendo con VIH/sida, presentan además síndromes reumáticos.

La alternativa terapéutica actual en el VIH/sida son los medicamentos antirretrovirales, los cuales no curan la infección pero producen una disminución significativa de la carga viral y una mejoría cualitativa y cuantitativa de las funciones inmunes, lo que ocasiona una disminución de las complicaciones infecciosas y una mejoría clínica global de los pacientes.^{8,14,26-28}

El presente trabajo se propuso como objetivo valorar los indicadores del EO en los pacientes afectados por VIH con manifestaciones reumatológicas.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de casos y controles de los pacientes cubanos infectados por VIH ingresados de enero de 2010 a septiembre de 2010 en el Instituto "Pedro Kouri" (IPK). Se estudiaron los adultos diagnosticados con un ELISA reactivo para VIH (ELISA-UNIFORM VIH I/II plus Organon Teknica). Este primer diagnóstico positivo fue confirmado por el ensayo Western Blot (DAVIH BLOT VIH-I, DAVIH Lab). Del total de pacientes ingresados 31 cumplieron los criterios de la American Rheumatism Association (ARA)²⁹ para manifestaciones reumatológicas. El grupo de estudio estuvo compuesto por pacientes entre los 25 y los 50 años de edad distribuidos en 2 provincias de Cuba. Como grupo control se utilizó un grupo de 31 adultos supuestamente sanos que residen en Ciudad de La Habana, del mismo intervalo de edad y género que el grupo infectado por VIH (relación 1:1). Todos estos individuos acudieron a la Consulta Externa del Hospital del IPK.

Los datos de la evolución clínica de estos individuos fueron por seguimiento activo del facultativo especialista y se reflejaron los datos de los índices observados en un cuaderno de recogida de datos elaborado al efecto y en las historias clínicas correspondientes.

Se les realizó una extracción de sangre de la cual se obtuvo: linfocitos, suero y plasma.

Se utilizó sangre total para la determinación de las subpoblaciones linfoides, eritrocitos para la evaluación de la actividad enzimática de catalasa y superóxido dismutasa y el suero fue utilizado para la determinación del resto de los índices del estado redox, de los índices hemoquímicos y plasma para determinar la carga viral.

Todos 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 del Hospital. Los individuos involucrados firmaron un consentimiento informado de acuerdo con su 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, EE. UU.

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 hemoquímicos

Las variables utilizadas para el estudio fueron hemoglobina, eritrosedimentación, conteo de leucocitos con diferencial, plaquetas, transaminasa pirúvica, ácido úrico, creatinina, proteínas totales, albúmina, índice albúmina/globulina.

Para determinar función hematológica se utilizó el diagnóstico de hemoglobina, hematócrito, conteo de leucocitos, diferencial y plaquetas que se realizó con los reactivos para el contador hematológico Micro 60 de la Firma ABX, Francia, cuyos reactivos están certificados, y la eritrosedimentación se hizo por el método clásico de Wintrobet basado en la proporción anticoagulante sangre tratada con citrato al 3,8 (1,8 molar) y montado en una pipeta de Westergreen.

Los reactivos utilizados para la función hepática (transaminasa pirúvica, proteínas totales, albúmina, índice albúmina/globulina) y renal (creatinina y ácido úrico) fueron comercializados por Boehringer Mannheim Roche Diagnostic GmhH-D-68298 Mannheim, Alemania, mediante un analizador automático (BM/Hitachi 912).

Para todas estas determinaciones se utilizó el Manual de procedimientos del Departamento de Laboratorio de Diagnóstico Clínico del Hospital del IPK.

Cuantificación de índices del estado redox

En la cuantificación de glutatión (GSH), se empleó una modificación de la técnica descrita por Sedlak y Lindsay (1968) que utiliza el reactivo de Ellmans.³⁰

Para la determinación de malonildialdehído (MDA), se utilizó la técnica descrita por Erdelmeier y otros, 1998.³¹

Con respecto a la determinación de la susceptibilidad a la peroxidación lipídica (PP), se incubaron muestras de suero con una solución de sulfato de cobre II (2 mM, concentración final) a 37 °C por 24 h. El PP se estimó sustrayendo del valor de concentración de MDA determinado a las 24 h el obtenido al tiempo cero.³²

Para la determinación de hidroperóxidos totales (HPO), se empleó el estuche diagnóstico de Bioxytech H2O2-560 cat. 21024 (Oxis international Inc. Portland USA). El ensayo se basa en la oxidación del ion 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 siguiendo la transformación de los iones yodo a yodo diatómico que provocan los PAOP siguiendo el cambio de DO a 340 nm. Se utiliza como patrón cloramina T y los resultados se expresan como iM de cloramina T.³³

En cuanto a la actividad total de superóxido dismutasa (SOD) se evaluó según el método de Mc Cord y Fridovich. Como fuente de aniones superóxido se utiliza la descomposición catalítica de la xantina por parte del enzima xantinoxidasa. Se mide la disminución de la reducción del citocromo C mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 546 nm, expresándose el resultado en μmg de proteína min^{-1} .³⁴

La actividad de catalasa (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 μg de proteína min^{-1} .³⁵

Determinación del grado de estrés oxidativo

Las determinaciones realizadas en el grupo aparentemente sano se tuvieron en cuenta para el cálculo del 90 percentil, considerado como valor de corte de referencia para la población enferma en estudio para cada variable del balance redox. A partir de este valor y considerando la variable de desviación estándar (DE) específica en el estudio se consideró niveles de extensión del proceso de EO para cada variable. Siguiendo el procedimiento cuando se encontró una diferencia en el valor de la variable en el grupo de estudio respecto al valor del grupo considerado como control de al menos una vez el valor de DE se definió como afectación leve (L), dos veces moderado (M) y a partir de tres veces de severo (S).²³

Análisis estadístico

En el caso de las variables cuantitativas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los datos se almacenaron como variables. Las variables cualitativas fueron analizadas en frecuencia y porcentajes; el análisis estadístico de estas se realizó usando chi cuadrado. En el caso de las variables cuantitativas las determinaciones se realizaron por triplicado. Se calcularon medianas para la edad y media, y el intervalo de confianza del 95 % para las demás variables. Se realizó el análisis de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene y se confirmó si estas seguían distribución normal o no en función de realizar comparación entre el grupo de estudio y el grupo control. La prueba de comparación paramétrica se aplicó si existía distribución normal empleando la prueba de la t de Student, de lo contrario se utilizó la prueba U de Mann Whitney. Resultó significativo para $p < 0,05$. Para el estudio de correlación entre los indicadores se empleó la prueba de correlación de Pearson. Se aceptó correlación lineal cuando $p < 0,05$. El sistema SPSS 13 se utilizó en el análisis estadístico.

RESULTADOS

De un total de 1 036 pacientes ingresados con VIH/sida, 31 (3,01 %) presentaron manifestaciones reumatológicas. El 33 % declaró como principal manifestación el dolor articular al momento del ingreso.

La clasificación diagnóstica de los pacientes con manifestaciones del sistema osteomioarticular fue: diez pacientes con artralgia, dos con síndrome de Reiter, dos con poliartritis asociada al VIH, uno con artritis psoriásica, siete con espondiloartropatía indiferenciada y nueve no clasificados, todos de tipo activa.

La magnitud del compromiso inflamatorio articular en los casos con manifestaciones reumatológicas se clasificó según el número de articulaciones afectadas; la mayoría de los casos se clasificaron en mono-oligoarticular por la toma de una, dos o tres articulaciones respectivamente. Es de señalar que no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la magnitud del compromiso inflamatorio articular en el grupo estudiado, con respecto a la variable género (chi cuadrado $p = 0,9993$) (tabla 1).

En el grupo de pacientes se observa un predominio de la manifestaciones articulares en las rodillas y los tobillos que son las articulaciones que más se afectan en los cuadros de espondiloartropatías, específicamente en los casos con artritis reactiva; se observó además que esta forma articular prevaleció en el género masculino.

En el momento en que aparecieron las manifestaciones reumatológicas se observó que la mayoría de los pacientes (79,41 %) había clasificado como caso sida antes del inicio de estas, bien por conteo de LTCD4 bajos ó por coinfecciones y enfermedades oportunistas definitorias de sida.

Ninguno de los enfermos refirió antecedentes de enfermedad reumática antes de que se confirmara el diagnóstico de infección por VIH. Como puede constatarse en la tabla 1, tanto para los hombres como para las mujeres, el tiempo transcurrido entre la aparición de los síntomas y signos del sistema osteomioarticular y el diagnóstico confirmado de seropositividad para el VIH de menos de 5 años fue el más representado, lo que resulta relevante teniendo en cuenta que 27 del total de 31 de los pacientes (para cualquier género) ya habían sido clasificados como sida.

Al analizar la posible asociación entre esta variable y el número de articulaciones afectadas después de iniciada la TARVAE, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de variables con el tiempo transcurrido después de iniciado el tratamiento (prueba de chi cuadrado: $p= 0,5170$) (tabla 1).

Tabla 1. Compromiso inflamatorio articular en los casos con manifestaciones reumatológicas de acuerdo con el género y el tiempo después de iniciada la terapia antirretroviral altamente efectiva TARVAE

| Cantidad de articulaciones afectadas | Género | | Total | Tiempo de TARVAE | | |
|--------------------------------------|-----------|----------|-------|----------------------------------|----------|----------|
| | Masculino | Femenino | | < 1 año | 1-5 años | > 5 años |
| 1 | 9 | 3 | 12 | 1 | 7 | 2 |
| 2 | 10 | 3 | 13 | 2 | 4 | 4 |
| 3 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 2 |
| Más de 3 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 |
| Total | 24 | 7 | 31 | 4 | 12 | 10 |
| Prueba chi cuadrado: $p= 0,9514$ | | | | Prueba chi cuadrado: $p= 0,5361$ | | |

Cuando se investigó la posible asociación entre el tiempo transcurrido desde la confirmación del diagnóstico de infección por el VIH y la aparición de las manifestaciones reumatológicas con la carga viral, no se encontraron diferencias significativas para ninguna de las categorías evaluadas por la prueba chi cuadrado ($p= 0,9958$) (tabla 2).

Para el análisis de la posible existencia de una asociación entre el conteo celular de LTCD4 y el tiempo transcurrido desde el diagnóstico confirmado de la infección por el VIH y la aparición de las manifestaciones reumatológicas, se evaluó el porcentaje de cada aspecto. Se encontró relativamente alto el número de pacientes que en menos de 5 años ya presentaban cifras inferiores a 200 cel/mm³ (tabla 2). No hubo diferencias significativas entre los grupos chi cuadrado $p= 0,765$ para ninguna de las categorías de tiempo y del número de LTCD4.

El análisis de las actividades enzimáticas antioxidantes en plasma muestra diferencias significativas entre los controles y los pacientes VIH (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 VIH respecto a los controles (tabla 3).

Tabla 2. Asociación entre el tiempo de aparición de las manifestaciones reumatológicas después del diagnóstico del VIH y la carga viral y los linfocitos T CD4+

| Tiempo (años) | Carga viral. Número | | | Total |
|---------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------|
| | > 55 000 cp/mL | ≤ 55000 cp/mL | No detectable | |
| < 5 | 5 | 10 | 4 | 19 |
| 5-10 | 1 | 5 | 2 | 8 |
| > 10 | 1 | 2 | 1 | 4 |
| Total | 7 | 17 | 7 | 31 |
| Prueba chi cuadrado p= 0,9402 | | | | |
| Tiempo (años) | Conteo absoluto de Linfocitos TCD4+ | | | Total |
| | < 200 cel/mm ³ | 200-400 cel/mm ³ | ≥ 500 cel/mm ³ | |
| < 5 | 4 | 10 | 5 | 19 |
| 5-10 | 4 | 2 | 2 | 8 |
| > 10 | 2 | 2 | 0 | 4 |
| Total | 10 | 14 | 7 | 31 |
| Prueba chi cuadrado: p= 0,6456. | | | | |

Tabla 3. Descripción de los parámetros de estrés oxidativo por grupo

| Variables | Control | Grupo de pacientes con manifestaciones reumatológicas |
|--|------------------|---|
| No. de pacientes | 31 | 31 |
| Malonildialdehído (μM) | 2,39 ± 0,43 | 4,37 ± 0,75 ^a |
| Potencial de peroxidación (μM) | 6,76 ± 0,37 | 8,27 ± 1,04 ^a |
| Hidroperóxidos (μM) | 16,86 ± 3,79 | 164,0 ± 21,55 ^a |
| Glutación (mg L ⁻¹) | 1222,26 ± 260,31 | 413,52 ± 18,22 ^a |
| Superoxido dismutasa (U g ⁻¹ de hemoglobina min ⁻¹) | 5,42 ± 0,17 | 4,35 ± 1,52 ^a |
| Catalasa (U g ⁻¹ de hemoglobina min ⁻¹) | 152,61 ± 29,43 | 452,14 ± 57,0 ^a |
| Productos avanzados de la oxidación de proteínas (μM de cloramina T) | 105,5 ± 3,53 | 119,3 ± 5,55 ^a |

^a Representa diferencia significativa p < 0,05 entre los valores del grupo de estudio y los controles. Media ± DE.

En los pacientes VIH con síntomas reumáticos también se encontraron un aumento significativo (p < 0,05) de la peroxidación lipídica (POL) expresada por la alta concentración de MDA y HPO.

Según el análisis de los valores de PP, se puede observar que son significativamente mayores los valores de los pacientes VIH con respecto a los controles (p < 0,05).

En cuanto a los PAOP los valores de los pacientes son superiores de manera significativa con respecto a los controles (p < 0,05).

En la tabla 4 (A) se informa el análisis de cada parámetro de EO para establecer los valores de corte. El anterior proceso fue llevado a cabo considerando el 90 percentil de la media de la población supuestamente sana. Todo lo anterior permitió evaluar en cada paciente el grado de EO. Este análisis también se presenta en la tabla 4 (B). La mayoría de los índices fueron evaluados como moderados.

Tabla 4. A) Valores de corte para los índices redox en sujetos aparentemente sanos y B) grado de estrés oxidativo en los pacientes VIH con síntomas reumáticos

| | | A | | | | | | |
|---------------------------------------|----------|---------|-------------|---------|--------|--------|--------|------|
| | | MDA | PP | GSH | CAT | PAOP | HPO | SOD |
| N | Válidos | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 |
| | Perdidos | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Media | | 2,30 | 6,75 | 1218,84 | 146,45 | 105,46 | 116,90 | 5,40 |
| Desviación típica | | 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 |
| | | B | | | | | | |
| | | Válidos | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 | 31 |
| N | Perdidos | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pacientes VIH con síntomas reumáticos | | M-31 | M-28 S-4 | S-31 | M-31 | M-31 | M-31 | M-31 |

MDA: malondialdehído; PP: potencial de peroxidación; GSH: glutatión; CAT: catalasa; PAOP: productos avanzados de la oxidación de proteínas, HPO: hidroperóxidos; SOD: superóxido dismutas; M: moderado; S: severo.

Con respecto al análisis de correlación de Pearson, la totalidad de los indicadores del estado redox evaluados en relación con el conteo de linfocitos T CD4+ resultaron con significación de $p < 0,01$ [PAOP (μM cloramina T) = -0,842; PP (μM) = -0,811; MDA (μM) = -0,730; GSH (mg L^{-1}) = 0,801; SOD ($\text{U mL}^{-1} \text{ min}$) = 0,583; CAT (μM) = -0,852; HPO (μM) = -0,819]. En el análisis de correlación entre estos indicadores y la carga viral no se encontró correlación lineal.

En relación con los parámetros bioquímicos y hematológicos no se observaron diferencias significativas en la comparación del grupo de pacientes VIH respecto al control. La mayor parte de ellos se encuentra dentro del intervalo considerado como normal en los análisis rutinarios (resultados no se muestran). Se observan diferencias significativas en el conteo de linfocitos T CD4+, las que resultaron menores en el caso de los pacientes VIH respecto a los controles ($p < 0,05$). Este resultado ubica a la mayoría de los pacientes del grupo de estudio en la condición de inmunocomprometidos.

La media de la carga viral de los pacientes VIH con síntomas reumáticos osciló entre 83 530, $36 \pm 19\ 644,12 \text{ U}$.

DISCUSIÓN

Las manifestaciones reumatológicas en los pacientes con VIH constituyen entidades que se informaron, durante la infección natural, en los casos en etapas avanzadas de la enfermedad; correspondió a Winchester y otros el mérito de haber hecho notar esta importante asociación.³⁶ Ha sido a partir de ese primer trabajo que se abrieron las puertas a las descripciones e investigaciones en múltiples síndromes y cuadros clínicos reumáticos en los pacientes VIH/sida, las que Reino Buelvas³⁷ cataloga en tres categorías como "exclusivas de la infección por el VIH, asociadas a la infección por el VIH y atenuadas por la infección por el VIH".

Autores como Louthrenoo y Reino Buelvas^{10,37} consideran a la espondiloartropatía la manifestación reumática más común en pacientes infectados con VIH, resultado este que se corrobora en la serie de casos estudiados en el presente trabajo.

La artralgia asociada al VIH fue la manifestación clínica más frecuente de desorden articular en el estudio (10 casos), lo cual coincide con lo informado por otros autores¹⁶ que encontraron una prevalencia entre un 5 y 45 % en dependencia de las series, con presentación oligoarticular, principalmente con afectación de rodillas, hombros y codos, autolimitada, no mayor de 24 h, que mejora con tratamiento; sin embargo, existen estudios en poblaciones VIH en que las espondiloartropatías no han sido las manifestaciones reumatológicas más frecuentes.³⁸

Las características clínicas del síndrome de Reiter y la artritis reactiva descritas en el presente estudio fueron similares a las que se describen en individuos sin infección por VIH.⁹ Pero algunos informes plantean que en los pacientes con infección por VIH el síndrome de Reiter y la artritis reactiva pueden no estar acompañadas de sacroileitis, uveítis y tratarse de síndrome de Reiter incompleto. Además afirman que la artritis puede no solo desarrollarse en estados avanzados de la infección por VIH con conteos de LTCD4 + bajos, sino que puede también preceder al estado de inmunodeficiencia.³⁹

Estudios previos muestran la existencia de EO asociado a la infección por VIH^{23,24,40} y, además, en los pacientes con síntomas reumáticos sin VIH.^{25,26} En ambos se manifiesta un aumento de los índices de oxidación a las biomoléculas y disminución de las capacidades antioxidantes. No se encuentran informes referentes a la evaluación de EO en pacientes con VIH y simultáneamente manifestaciones reumatológicas.

El estudio del EO en estos individuos tuvo como intención fundamental comparar los valores de este grupo con un grupo supuestamente sano de similar composición en edad y género.

El hallazgo principal del estudio es la presencia de un desbalance redox a favor de la producción de oxidantes lipídicos y proteicos en una población VIH/sida con manifestaciones reumatológicas, así como el déficit de las defensas antioxidantes. Sin embargo, la población VIH en sí y la sintomatología de carácter reumático se caracterizan por la confluencia de múltiples factores capaces por sí solos de provocar este estrés.⁴¹

En las últimas dos décadas ha aumentado el interés en descubrir las causas de la elevada morbilidad y mortalidad cardiovasculares de los individuos con síntomas reumáticos. Adicionalmente, y sin ser el objetivo de este trabajo, los presentes datos avalan indirectamente el papel desempeñado por las ERO sobre la activación de señales proinflamatorias, así como de sus efectos sobre la disfunción endotelial y aterogénesis en situaciones de dislipemia en los pacientes con esta sintomatología.¹⁷⁻¹⁹ Por ello, el EO ha sido objeto de múltiples estudios, en virtud de las pruebas que lo posicionan en el centro de la fisiopatología de la placa de ateroma.^{18,20}

Sin embargo, la mayor parte de las investigaciones informadas se centran en escasos indicadores oxidativos, y muchas veces en poblaciones de características heterogéneas.^{8,13,17,40,41}

La determinación de las ERO producidas (O_2^- , $\cdot OH$, H_2O_2 , etc.) de manera endógena es muy difícil de realizar técnicamente por la corta vida media de estas, además de ser una determinación inespecífica. Por tanto, lo más adecuado es medir

los resultados del daño que producen las ERO en las diferentes biomoléculas y valorar el estado antioxidante.²³

Cuando las ERO superan la barrera antioxidante, pueden interaccionar con las estructuras fosfolipídicas entre otras biomoléculas, y producir en este caso la POL. Uno de los productos de esta reacción es el MDA y los lipoperóxidos cuya cuantificación da una idea de la extensión de la POL.²³

La principal fuente de aterogénesis se ha demostrado que es la POL, la cual conlleva la activación in situ de los monocitos y macrófagos, generación de las células espumosas y proliferación de las células musculares de la pared vascular.^{20,21}

Varios autores han encontrado valores elevados de POL en pacientes con síntomas reumáticos.^{17,29,25} Aspecto similar encontrado en este trabajo, con valores significativamente elevados en el grupo VIH con respecto a una población supuestamente sana ($p < 0,05$). Los resultados en los pacientes en estudio coinciden con los de otros muchos autores respecto a una POL aumentada.^{17,40}

Los valores de PAOP elevados respecto al grupo control pueden estar relacionados a la generación sostenida de productos proinflamatorios que generan un estado crónico de mediadores y efectores en su mayoría proteicos expuestos al estado prooxidante evidenciado. Estos productos son proactivos y desencadenan otras señales que generan un estado de no resolución de la inflamación, y que conducen a acumulación de productos a la larga dañinos que pudieran mediar procesos patológicos.

El estudio del estado redox se completó con el análisis de la actividad de las principales enzimas antioxidantes, así como del glutatión. El glutatión es un tiori tripeptídico que se encuentra en la mayoría de los animales y que es probablemente 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.²⁹ Los pacientes presentan valores disminuidos de GSH, lo que pudiera estar relacionado con un aumento de circulación en la concentración de GSSG.

En condiciones normales, la concentración de antioxidantes es bastante superior a la concentración de productos oxidantes. De esta manera la generación continua de ERO, derivadas del metabolismo celular, experimenta una neutralización aunque no ocurre de manera total, lo que produce un daño acumulativo basal.^{20,21} Una protección antioxidante eficaz requiere la actuación sincronizada de varias enzimas, entre ellas se estudiaron: SOD y CAT. Se encuentra la actividad de SOD significativamente disminuida en el grupo de pacientes, y CAT aumentada, con respecto al grupo sano ($p < 0,05$), reflejo del desbalance que existe entre los factores oxidantes y antioxidantes.

En conclusión, los resultados muestran que los indicadores del proceso de estrés oxidativo empleados en los pacientes afectados por VIH con manifestaciones reumáticas, podrían ser útiles en su seguimiento y tratamiento.

Es necesario realizar trabajos prospectivos longitudinales en pacientes VIH con esta sintomatología. El prevenir o reducir el EO resulta tarea primordial después de vistos los factores patogénicos. Así como elaborar y evaluar estrategias nutricionales y suministrar suplementos vitamínicos o antioxidantes que pudieran influir en rectificar la deficiencia de antioxidantes endógenos asociados a la infección y producidos durante la terapia antirretroviral y prevenir el daño oxidativo a las diferentes biomoléculas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic 2010. UNAIDS. Available from: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2010/20101123_globalreport_en.pdf
2. Anuario estadístico de salud. Ministerio de Salud Pública. 2011. Disponible en: <http://files.sld.cu/dne/files/2012/04/anuario-2011-e.pdf>
3. Muller-Ladner U, Kriegsmann J, Gay RE. Progressive joint destruction in human immunodeficiency virus-infected patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995; 38:1328-32.
4. Berman A, Espinoza LR, Díaz JD, Aguilar JL, Rolando T, Vasey FB, et al. Rheumatic manifestations of human immunodeficiency virus infection. *Am J Med.* 1988; 85:59-64.
5. Yao Q, Frank M, Glynn M, Altman RD. Rheumatic manifestations in HIV-1 infected in-patients and literature review. *Clin Exp Rheumatol.* 2008; 26: 799-806.
6. Murphy EL, Collier AC, Kalish LA, Assmann SF, Para MF, Flanigan TP, et al. Highly active antiretroviral therapy decreases mortality and morbidity in patients with advanced HIV disease. *Ann Intern Med.* 2001; 135(1):17-26.
7. Centres for Disease Control and Prevention. Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. *MMWR* 58 (No. RR-4) April 10, 2009. [AIDSinfo Web Site]. Available from: <http://www.aidsinfo.nih.gov/Guidelines>
8. Nguyen BY, Reveille JD. Rheumatic manifestations associated with HIV in the highly active antiretroviral therapy era. *Curr Opin Rheumatol.* 2009; 21(4): 404-10.
9. Vassilopoulos D, Calabrese LH. Virally associated arthritis 2008: clinical, epidemiologic, and pathophysiologic considerations. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10(5): 215.
10. Louthrenoo W. Rheumatic manifestations of human immunodeficiency virus infection. *Curr Opin Rheumatol.* 2008; 20(1): 92-9.
11. Calabrese LH, Kirchner E, Shrestha R. Rheumatic complications of human immunodeficiency virus infection in the era of highly active antiretroviral therapy: emergence of a new syndrome of immune reconstitution and changing patterns of disease. *Semin Arthritis Rheum.* 2005; 35: 166-74.
12. Dhasmana DJ, Dheda K, Ravn P, Wilkinson RJ, Meintjes G. Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-Infected patients receiving antiretroviral therapy: pathogenesis, clinical manifestations and management. *Drugs.* 2008; 68(2): 191-208.
13. Medina F, Pérez L, Moreno J. Rheumatic Manifestations of Human Immunodeficiency Virus Infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2006; 20: 891-912.
14. Kelly PV. Manifestaciones reumatológicas en pacientes infectados con virus de inmunodeficiencia humana. *Acta Med Colomb.* 2010; 1: 15-20.

15. Márquez J, Restrepo CS, Candia L, Berman A, Espinoza LR. Human immunodeficiency virus associated rheumatic disorders in the HAART era. *J Rheumatol.* 2004;31:741-6.
16. Zhang X, Li H, Li T, Zhang F, Han Y. Distinctive rheumatic manifestations in 98 patients with human immunodeficiency virus infection in China. *J Rheumatol.* 2007;34:1760-4.
17. 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;1:370-80.
18. Deaney CL, Feyi K, Fomest CM, Freeman A, Harman G, McDonald MS, et al. Levels of lipid peroxidation products in a chronic inflammation disorder. *Rev Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001;110:87-95.
19. Bauerova K, Bezele A. Role of reactive oxygen and nitrogen species in ethiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Gen Physiol Biophys.* 1999;18:15-20.
20. Ignatowicz E, Rybezynsda M. Some biochemical and pharmacological aspects of free radical-mediated tissue damage. *Pol J Pharmacol.* 1994;46:103-14.
21. Sherwood L. Human physiology: from cells to systems. In: Belmont CA, editor. *Textbook of Medical Physiology.* London: Wadsworth Publishing Co; 2004.
22. Filippin LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM. Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2008;152:415-22.
23. Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage. Applications in experimental animals and in humans. *Free Rad Biol Med.* 1999;26(1/2):202-26.
24. Masiá M, Padilla S, Bernal E, Almenar MV, Molina J, Hernández I, et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. *Clin Therap.* 2007;29(7):1448-55.
25. Ozturd HS, Cimen MY, Cimen OB, Kacmaz M, Durak I. Oxidant/antioxidant status of plasma samples from patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 1999;19:35-7.
26. Kalpakcioglu B., Senel K. The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2008;27:141-5.
27. Muller F, Svardal AM, Nordoy I, Berge RK, Aukrust P, Froland SS. Virological and immunological effects of antioxidant treatment in patients with HIV infection. *Eur J Clin Invest.* 2000;30(10):905-14.
28. Semba RD, Tang AM. Micronutrients and the pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Br J Nut.* 1999;81:181-9.
29. Anestt FA, Edworthy SM, Bloch DA. The American Rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of Rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31:315-24.

30. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non protein sulfhydryl group in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968;25:192-205.
31. 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.
32. Ozdemirler G, Mehmetcik G, Oztezcan S, Toker G, Sivas A, Uysal M. Peroxidation potential and antioxidant activity of serum in patients with diabetes mellitus and myocardial infarction. *Metab Res.* 1995;271:194-6.
33. 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.
34. McCord JM, Fridovich I. The reduction of cytochrome C by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem.* 1968;243:5753-60.
35. Clairborne A. Catalase activity. En: Green-Wald RA, ed. *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research.* Boca Ratón, FL: CRC Press Inc; 1986. p. 283-4.
36. Winchester R, Bernstein DH, Fisher HD, Enlow R, Solomon G. The co-occurrence of Reiter's syndrome and acquired immunodeficiency. *Ann Intern Med.* 1987;106:19-26.
37. Reino Buelvas A, Vásquez Duque G. Manifestaciones reumáticas de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). *IATREIA.* 2005;18:185-98.
38. Njobvu P, McGill P. Human immunodeficiency virus related reactive arthritis in Zambia. *J Rheumatol.* 2005;32:1299-304.
39. Walker U A, Tyndall A, Daikeler T. Rheumatic conditions in human immunodeficiency virus infection. *Rheumatology.* 2008;47:952-9.
40. Gil L, Martínez G, González I, Tarinas A, Álvarez A, Giuliani A, Molina R, Pérez J. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res.* 2003;47:217-24.
41. French MA, Price P. Immune restoration disease in HIV-infected patients after antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2001;32:325-6.

Recibido: 21 de marzo de 2012.

Aprobado: 23 de mayo de 2012.

Olga Pomier Suárez. Laboratorio de Farmacología Clínica. Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Autopista Novia del Mediodía, km 6 ½, Marianao 13, PO Box 601, La Habana, Cuba. Correo electrónico: olgap@ipk.sld.cu