

Evaluación de niveles séricos de IL-6, PCR-hs, dímero D y óxido nítrico como marcadores pronóstico de comorbilidades no asociadas a SIDA

Por **Natalia Raimondo¹, Evelyn Butass², Juan Carlos Nicolas³, Paola Asenza⁴, Marcelo Martins⁵, Adriana Cassinerio⁶, Maribel Martínez Wassaf⁷, María del Pilar Aoki^{8,9}*

1 Departamento Inmunología – LACE Laboratorios – Córdoba - Argentina

2 Departamento Virología – LACE Laboratorios – Córdoba – Argentina

3 Departamento Química Clínica – LACE Laboratorios – Córdoba – Argentina

4 Departamento de Endocrinología - LACE Laboratorios - Córdoba - Argentina

5 Servicio de Infectología - Instituto Oulton

6 Laboratorio de Inmunología del Hospital de Niños – Córdoba - Argentina

7 Cátedra de Virología - Facultad de Ciencias Químicas - Universidad Católica de Córdoba - Córdoba - Argentina

8 Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Córdoba, Argentina.

9 Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

*Contacto: Raimondo Natalia. LACE Laboratorios. Vélez Sarsfield – Córdoba. Tel: (03541) 15571233.

E-mail: nataliaraimondo@gmail.com

RESUMEN

La infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) se ha convertido en una enfermedad crónica gracias a la nueva generación de terapia antirretroviral (TARV) pero la supervivencia se asocia a otros problemas generados por la inflamación persistente.

El objetivo fue valorar niveles de IL-6, proteína C reactiva ultrasensible (PCR-hs), dímero D y óxido nítrico (NO) en pacientes VIH positivos y evaluar si pueden ser utilizados como pronósticos de comorbilidades no asociadas a SIDA. Se estudiaron 63 individuos, 37 pertenecieron al grupo control y 26 fueron pacientes VIH positivos. Se determinaron los niveles séricos de IL-6 por enzoinmunoensayo, PCR-hs y dímero D por inmunoturbidimetría y NO espectrofotométricamente. Se cuantificaron los niveles de colesterol total, HDL colesterol (HDL), LDL colesterol (LDL), triglicéridos, glucemia, alaninoaminotransferasa (GPT), aspartatoaminotransferasa (GOT) y creatininemia.

Los pacientes infectados por VIH presentaban alteraciones significativas en su perfil lipídico junto a una incrementada glucemia. Se encontró una clara tendencia de valores séricos más elevados en los marcadores inflamatorios estudiados en pacientes con respecto a los controles, pero ninguno fue

estadísticamente significativo. Al analizar los marcadores inflamatorios en pacientes con o sin comorbilidades, las diferencias halladas no fueron estadísticamente significativas.

En conclusión, las alteraciones metabólicas encontradas podrían ser responsables de las patologías cardiovasculares asociadas. Nuestro trabajo aporta los primeros resultados tendientes a establecer las posibles correlaciones entre marcadores infamatorios, cambios metabólicos y comorbilidades en pacientes infectados con VIH en la población de la Provincia de Córdoba.

Palabras Claves: IL-6, Virus de la Inmunodeficiencia Humana, Comorbilidades, Tratamiento.

INTRODUCCIÓN

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es miembro de la familia *Retroviridae*, subfamilia *Lentivirus* y fue aislado por primera vez en 1984 por Luc Montagnier (Instituto Pasteur, Paris). Es el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), que representa la expresión clínica final de la infección¹. El SIDA había sido reconocido por primera vez como una nueva enfermedad tres años antes en EEUU con la aparición repentina de infecciones oportunistas (*Pneumocystis carinii*) y neoplasias (Sarcoma de Kaposi y Linfoma No-Hodkins) en varones homosexuales¹. Se conocen 2 tipos de VIH que comparten sólo una similitud genética de entre el 40 y 50%: el VIH-1, de distribución mundial, y el VIH-2, sólo en África occidental. Las vías de transmisión son tres: sexual, parenteral y vertical².

La epidemiología de la infección del VIH del año 2016 refleja que existen 36.7 millones de personas en el mundo viviendo con VIH y alrededor de un 53% tiene acceso a la terapia con antiretrovirales (TARV). De ellos, 1.8 millones se han infectado en 2016 y un millón ha fallecido por SIDA³.

Las células blanco del VIH son aquellas que presentan un receptor CD4 (células T, macrófagos y células de la microglia) y un correceptor de quimioquinas CCR5 (macrófagos y células de la microglia) o CXCR4 (linfocitos), lo que clasifica a las cepas de VIH como R5 o X4 según se una al CCR5 o al CXCR4, respectivamente. Hay cepas duales R5X4 que utilizan cualquiera de los dos correceptores⁴.

La característica más importante de la infección es la destrucción de las células T CD4 positivas (LT-CD4+) del sistema inmune (SI) reduciendo la inmunidad mediada por células y dando a lugar a infecciones oportunistas y cáncer. Por otro lado, ocasiona un daño directo en varios tejidos (intestino, cerebro y pulmón) a través de la infección de células mononucleares y su consiguiente activación⁵.

A raíz de la activación inmune y sus efectos en el endotelio, pueden ocurrir daños sistémicos, como enfermedad cardiovascular, hepatopatías, enfermedad pulmonar y en el sistema nervioso central. La activación crónica del SI es lo que contribuye a la progresión de la infección del VIH^{6,7,8,9}, y está asociado a un fallo en la reconstitución del mismo con el tratamiento antirretroviral (TARV)¹⁰. En este contexto, existe una activación policlonal¹¹, aumento de células T *turnover*¹² y células T con fenotipo de activación¹³, concomitante con un incremento sérico de citocinas y quimiocinas que mantienen un estado inflamatorio persistente independientemente de los niveles de carga viral. En este sentido, la citoquina IL-6 es clave en la inducción de potentes indicadores de inflamación como la proteína C reactiva (PCR). La inflamación generada afecta, además, los controles protectores de la activación de la coagulación^{14,15}. Se genera una recurrente inducción del factor tisular y el ensamblado de complejos catalíticos sosteniendo la producción de trombina y la formación de fibrina, lo que lleva a la generación de fragmentos y consecuentemente, a elevados niveles del dímero D, efecto también inducido por IL-6¹⁶.

En concordancia, existe un incremento en la expresión de CD38 y del Complejo Mayor de Histocompatibilidad HLA-DR en las células T^{7,10,17}, como indicador de activación inmune, así como niveles elevados de IL-6 y TNF (Factor de Necrosis Tumoral por sus siglas en Inglés)¹⁸. Aunque la replicación viral se ha relacionado con muchos de éstos índices de activación inmunológica, algunos persisten elevados aún cuando la replicación viral esta suprimida por el TARV^{10,19,20}.

En 2006 se publicó el estudio SMART (por las siglas en inglés correspondientes a *Strategies for Management of Antiretroviral Therapy*), en el que se investigó la calidad de vida e índices de mortalidad en dos grupos de pacientes, uno que siguió el TARV actual sostenido versus otro con TARV intermitente (interrupción de la terapia una vez que el recuento de LT-CD4⁺ llegaba a 350 células/mm³ y reiniciada cuando caía a 250 células/mm³)²¹. En dicho estudio se concluyó que los pacientes con TARV guiado por el recuento de linfocitos LT-CD4⁺, aumentaron significativamente el riesgo de adquirir enfermedades oportunistas en comparación con la terapia continuada, en gran medida como consecuencia de la disminución de LT-CD4⁺ y carga viral aumentada. A su vez, la TARV esporádica no reduce los eventos adversos que se han asociados a la terapia continua.

En un sub-estudio del estudio SMART, tres factores solubles fueron predictores independientes generales y de morbilidad cardiovascular: IL-6, PCR-hs y dímero D^{22, 23}. En otro estudio caso control del mismo SMART, niveles plasmáticos de CD14 (sCD14), un correceptor de lipopolisacárido bacteriano (LPS), fue identificado como predictor de mortalidad²⁴. Otros grupos observaron que un incremento en los niveles plasmáticos de IL-6 estaría asociado con el SIDA, la progresión de la enfermedad y el desarrollo de infecciones oportunistas en pacientes infectados no tratados^{25,26,27,28}.

La extensión de vida de los pacientes que reciben TARV combinada (dos o más fármacos que inhiben distintos procesos del ciclo natural del virus), denominada HAART (TARV de alta eficiencia) ha determinado una nueva era de enfermedades no asociadas al SIDA y una restauración incompleta del SI, vinculadas a la inflamación y a la activación inmune persistente^{23,29}. Así, a pesar del buen control de las cargas virales (CV-VIH), las personas que conviven con el VIH tienen mayor riesgo de complicaciones inflamatorias como enfermedades cardiovasculares y desarrollo de cáncer^{30,31,32}. En estos pacientes se observa que mecanismos específicos, como una respuesta generalizada a la infección, contribuye a la activación del SI. Una pérdida temprana de la integridad de la mucosa gastrointestinal, aumento de citocinas pro-inflamatorias, coinfecciones y una marcada destrucción de la arquitectura de los nódulos linfoides son todos factores que contribuyen a la activación del SI así como al deterioro de la recuperación del mismo^{23,29}. De esta manera, existen evidencias cada vez más fuertes que el recuento de LT-CD4⁺ y CV-VIH no proveen una imagen completa del estado del SI. Niveles elevados de marcadores inflamatorios han mostrado que predicen un

incremento en la mortalidad y otros eventos adversos^{29,33,34,35}, por lo que podría ser importante incluir estos marcadores en los algoritmos de seguimiento y control de personas que viven con el VIH.

En resumen, los trabajos señalados coinciden en resaltar que los niveles séricos de IL-6 podrían ser indicadores de comorbilidades no asociadas a SIDA en estos pacientes. En este sentido, un nuevo mecanismo efector para IL-6 ha sido recientemente reportado en el contexto de otra infección crónica humana. En la enfermedad de Chagas, IL-6 tendría un importante rol anti-oxidante determinado por la regulación de la liberación de IL-1 β , citoquina que estimula la producción de NO³⁶. Es conocido que altos niveles de NO contribuyen a la hipofunción del SI³⁷, lo que a su vez favorecería el mantenimiento de la inflamación crónica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Valorar niveles de marcadores inflamatorios (IL-6, PCR-hs, dímero D y NO) en pacientes VIH positivos y evaluar su valor pronóstico de comorbilidades no asociadas a SIDA.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar si nuestra población de pacientes adultos VIH positivos presenta diferencias en diversos parámetros de laboratorio relacionado con comorbilidades no asociadas a SIDA.
- 2) Determinar si existe correlación entre los niveles séricos de IL-6 con CV-HIV y LT-CD4⁺ en nuestra población de pacientes adultos VIH positivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes y métodos

Fueron considerados para el estudio todos los individuos mayores de 18 años que concurrieron entre Enero de 2019 y Junio de 2019 a LACE Laboratorios de la Provincia de Córdoba. Se recolectaron muestras de suero, plasma citratado y plasma con EDTA de los donantes divididos en dos subpoblaciones (A y B). Todos los sujetos tanto controles como VIH positivos firmaron previamente el consentimiento informado. El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki siguiendo los lineamientos establecidos en el protocolo

aprobado por el Comité Institucional de Ética de Investigación de la Salud Oulton Romagosa N°3717. A todos los individuos se les realizó dosaje de leucocitos y plaquetas por el Analizador Hematológico Sysmex XT-4000i™, colesterol total, HDL colesterol (HDL), LDL colesterol (LDL), triglicéridos, glucemia, alaninoaminotransferasa (GPT), aspartatoaminotransferasa (GOT) y creatininemia en el autoanalizador c501 COBAS 6000 (ROCHE®); antígeno de superficie de Hepatitis B por electroquimioluminiscencia en e600 COBAS 6000 (ROCHE®), anticuerpos totales anti virus de la Hepatitis C por enzimoimmunoensayo (Dia.Pro®) y al grupo de individuos no infectados un screening de VIH de cuarta generación que midiendo anticuerpos anti VIH 1/2 y Antígeno p24 por electroquimioluminiscencia en e600 COBAS 6000 (ROCHE®).

A) Individuos no infectados con VIH: Se recolectaron muestras de 51 pacientes. Se excluyeron 14 pacientes que presentaron uno o más de los siguientes hallazgos de laboratorio compatibles con infección o enfermedad inflamatoria aguda al momento de la inclusión al estudio: leucocitos $<4000/\text{mm}^3$ o $>10000/\text{mm}^3$, plaquetas <150.000 o $>450.000/\text{mm}^3$; o declaren haber recibido vacunas o inmunoglobulinas en los últimos 6 meses. Además los pacientes no recibieron TARV ni hipolipemiente en el último año, con niveles normales de colesterol total (Colesterol total $<200\text{mg/dL}$), HDL (HDL $>40\text{mg/dL}$ para hombres y HDL $>50\text{mg/dL}$ para mujeres), LDL (LDL $<130\text{mg/dL}$) y triglicéridos (TG $<150\text{mg/dL}$). También se excluyeron pacientes con trastornos de la glucemia (Glucemia $>110\text{mg/dL}$), alteraciones hepáticas (GOT y GPT $>50\text{mUI/mL}$) o enfermedad renal (Creatinina sérica $>1,3\text{mg/dL}$).

B) Individuos infectados con VIH: Se incluyeron 26 sujetos VIH positivos y fueron excluidos pacientes con menos de un año de su diagnóstico. Se les realizó recuento de LT-CD4⁺ por citometría de flujo (CyFlow Cube 6) y CV-VIH por COBAS Ampliprep/Taqman HIV-1 ROCHE®. Todos estaban con TARV, y sólo 21 de ellos informaron el esquema de medicación. Los antiretrovirales fueron: Abacavir, 3TC Complex (Lamivudina + Zidovudina), Efavirenz, Atazanavir, Ritonavir, Maraviroc, Tenofovir, Raltegravir, Azidotimidina, Nevirapina. A excepción de un solo paciente que está con una combinación de cuatro antiretrovirales, los demás individuos están con una combinación de tres.

IL-6

Se determinaron niveles de IL-6 sérico de todos los pacientes por enzimoimmunoensayo de captura utilizando el kit BD OptEIA™ Human IL-6 siguiendo las indicaciones del fabricante.

PCR de alta sensibilidad (PCR-hs)

Se determinaron los valores de PCR-hs de todos los pacientes por Inmunoturbidimetría utilizando el autoanalizador c501 COBAS6000 (ROCHE®) siguiendo las indicaciones del fabricante y tomando como valor de corte 6 mg/L.

Determinación de dímero D

Los valores de dímero D fueron determinados por el autoanalizador COBAS t 411 (ROCHE®).

Óxido nítrico

Los niveles de nitrito fueron medidos espectrofotométricamente por medio de la reacción de Griess (Sigma Aldrich®), a los fines de cuantificar los niveles de NO séricos. La concentración de nitritos fue calculada a partir de una curva estándar realizada con diferentes concentraciones de NaNO₂. Los niveles de NO se expresaron en μM.

Análisis Estadístico

Las variables cuantitativas se describieron utilizando la media y el error estándar; y el rango mínimo-máximo; y las variables cualitativas se describieron con frecuencias absolutas (n) y frecuencias relativas (%). Las relaciones entre variables cualitativas se analizaron mediante test de Chi cuadrado. Las relaciones entre variables cuantitativas se analizaron mediante test de Wilcoxon o test T, según la naturaleza de las variables. Para saber si tenían distribución gaussiana o no, se realizaron pruebas de normalidad de ShapiroWilks y de KolmogorowSmirnof. Por último, se realizaron correlaciones de Pearson o de Spearman; según correspondiese. p-valor < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. Para el análisis de los datos se utilizó Infostat versión profesional 2019.

RESULTADOS

Se analizaron los datos de 63 individuos, de los cuales 37 pertenecieron al grupo control y 26 fueron pacientes VIH positivos. Los individuos controles tuvieron un promedio de edad de 37 años, con un rango de 24 - 76 años; y los pacientes con VIH tuvieron un promedio de edad de 46 años, con un rango de 25 - 64 años. Todos los pacientes VIH positivos estaban con TARV.

En la tabla 1 se pueden observar los valores de laboratorio de los dos grupos de pacientes, que se utilizaron para establecer los criterios de exclusión. Los individuos controles tuvieron valores más bajos de colesterol total, LDL, triglicéridos, glucemia, GOT y GPT que los pacientes con VIH; y tuvieron valores más elevados de plaquetas y HDL que los pacientes VIH.

Sin embargo, las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se observaron en los valores de HDL, triglicéridos, glucemia, GOT y GPT. Los individuos controles tuvieron un promedio de HDL de 55 mg/dL (mín.- máx.: 39-88 mg/dL), mientras que los del segundo grupo tuvieron promedios de 45 mg/dL (mín.- máx.: 21-99 mg/dL) (p-valor: 0,0067). Los valores de triglicéridos fueron de 98,54 mg/dL (mín.- máx.: 39-184) para el grupo control y de 185,88 mg/dL (mín.- máx.: 43-876) para el grupo de pacientes VIH positivo (p-valor:

0,0033). Con respecto a los valores de glucemia, el primer grupo tuvo promedio de 89,46 mg/dL (mín.- máx.: 72-114), mientras que los del segundo grupo tuvieron promedio de 97,85 mg/dL (mín.- máx.: 83-139) (p-valor: 0,0004). Por último, los valores de GOT y de GPT fueron de 17,35 mUI/mL (mín.- máx.: 9-40) y de 16,89 mUI/mL (mín.- máx.: 7-41) respectivamente para los controles; y de 24,23 mUI/mL (mín.- máx.: 13-57) y de 27,45 mUI/mL (mín.- máx.: 11-97) para los pacientes con VIH (p-valor GOT: 0,0009. P-valor GPT: 0,0006).

Tabla 1. Valores de laboratorio de los pacientes control y de los pacientes con VIH

Variable	CONTROL (n=37)			VIH (n=26)			P- valor
	Media	Mín	Máx	Media	Mín	Máx	
Edad (años)	37,03	24	76	45,69	25	64	0,0016
Plaquetas (miles/mm3)	269,35	152	390	242,08	122	351	0,0846
Colesterol (mg/dL)	175,38	98	231	187,15	122	275	0,166
HDL (mg/dL)	55,05	39	88	45,65	21	99	0,0067
LDL (mg/dL)	99,92	31	158	112,65	66	163	0,0967
Trigliceridos (mg/dL)	98,54	39	184	185,88	43	876	0,0033
Glucemia (mg/dL)	89,46	72	114	97,85	83	139	0,0004
GOT (mUI/mL)	17,35	9	40	24,23	13	57	0,0009
GPT (mUI/mL)	16,89	7	41	27,54	11	97	0,0006
Creatinina (mg/dL)	0,85	0,54	1,22	0,88	0,53	1,3	0,5287

Se analizó si los pacientes infectados con VIH tenían otra enfermedad de transmisión sexual, como Hepatitis B o Hepatitis C. En la figura 1 (Fig 1) podemos observar que hubo un 4% de casos positivos para ambas enfermedades (1 paciente en cada caso). En los controles no se encontró reactividad para ninguna de las enfermedades de transmisión sexual analizadas.

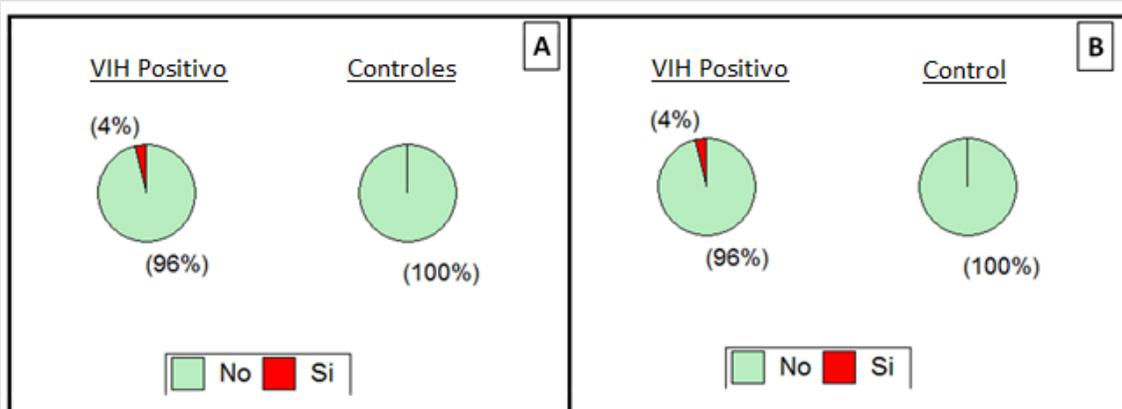


Fig 1. Porcentajes de individuos con Hepatitis B (Fig A) y pacientes con Hepatitis C (Fig B), según si fueron grupo control o VIH positivos.

A continuación, se analizó si existían diferencias entre los individuos controles y los pacientes VIH positivos al dosar IL-6 (Fig 2). El grupo control tuvo valores promedio de 5,83 pg/mL (mín. -máx.: 4,70 – 8,06), mientras que los pacientes con VIH tuvieron valores más elevados; con promedio de 9,20 pg/mL (mín. -máx.: 4,60 – 40,35). Sin embargo, los resultados no fueron estadísticamente significativos (p-valor: 0,4995).

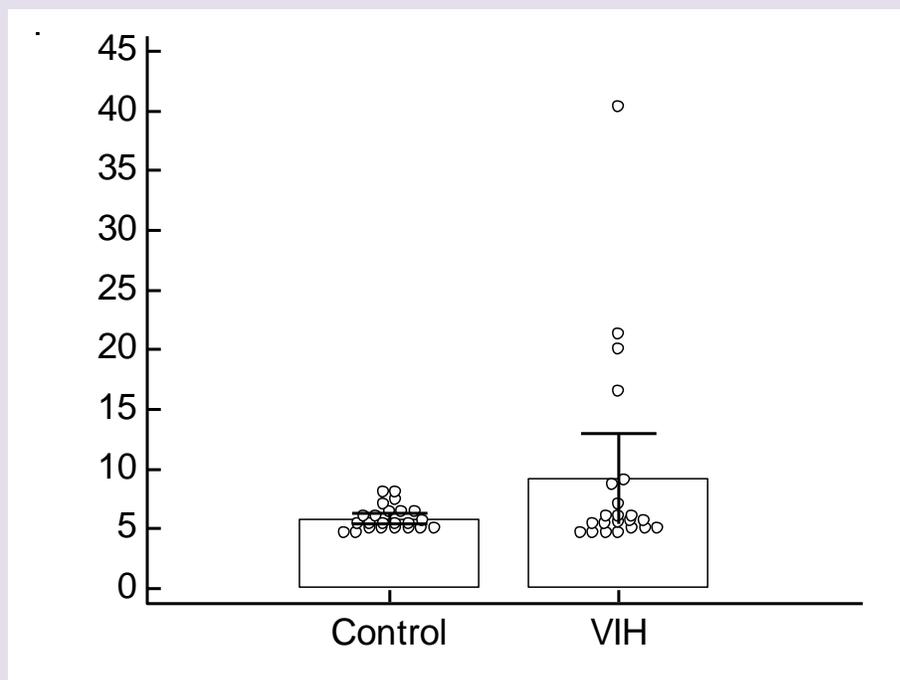


Fig 2. Promedio ± error estándar de IL-6 en individuos controles y pacientes VIH positivos. (p.valor: 0,4995)

Seguidamente se observó si existían diferencias entre los grupos al medir PCR-hs (Fig 3). Los individuos controles tuvieron valores más bajos que los pacientes con VIH, pero los resultados no fueron estadísticamente significativos (p-valor: 0,2006). En el primer grupo, el promedio fue de 1,41 mg/L (mín.- máx.: 0,20- 7,70) mientras que en los del segundo grupo el promedio fue de 1,83 mg/L (mín.- máx.: 0,10 -5,70).

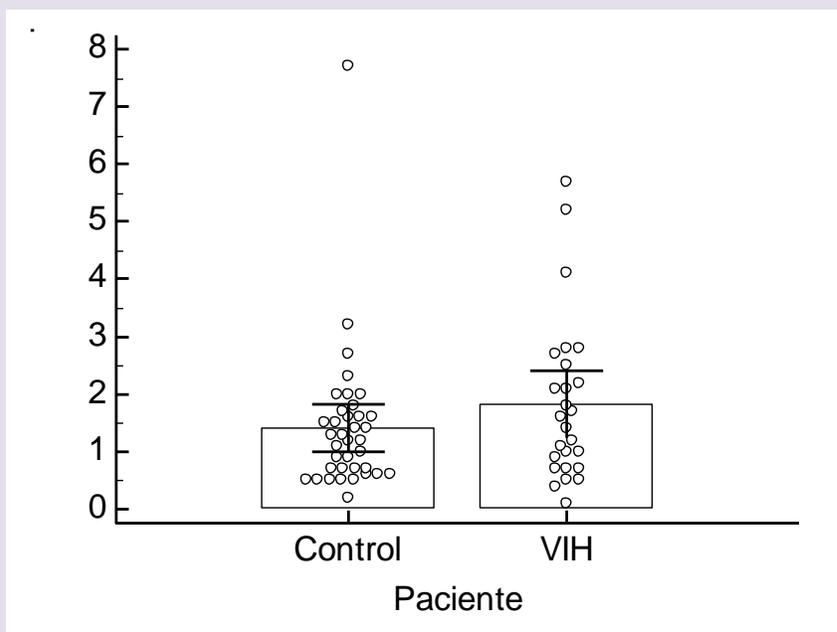


Fig 3. Promedio \pm error estándar de PCR-hs en donantes control y pacientes VIH positivos. (p-valor: 0,2006).

Se analizó si se observaban diferencias en los valores de dímero D entre los dos grupos estudiados, y si bien el grupo control obtuvo valores más elevados, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p-valor: 0,2313) (Fig 4). Los individuos controles tuvieron un promedio de 0,33 μ g de UEF/mL (mín.- máx.: 0,25-1,34); mientras que los pacientes tuvieron un promedio de 0,29 μ g de UEF/mL (mín.- máx.: 0,25 – 0,41).

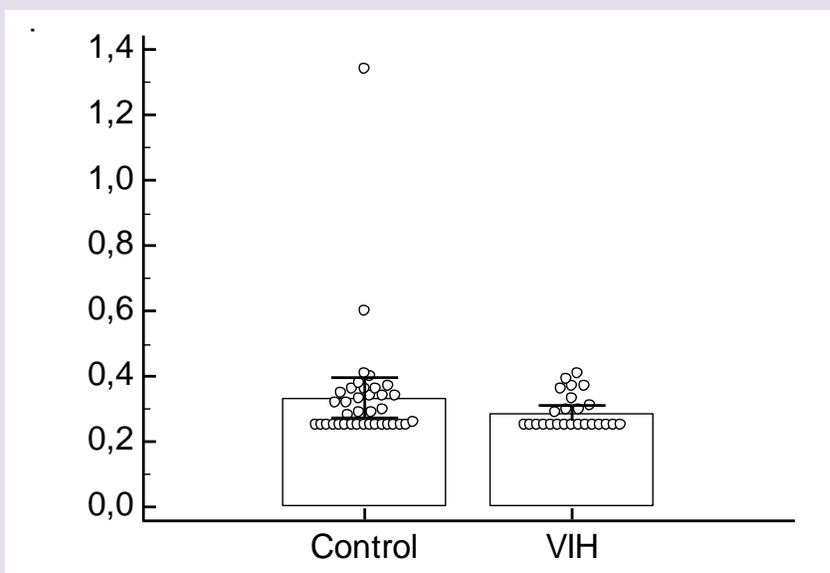


Fig 4. Promedio \pm error estándar de Dímero D en individuos controles y pacientes VIH positivos. (p-valor: 0,2313)

Se analizó si existían diferencias en los valores de NO dosado en los distintos grupos de pacientes (Fig 5). En los individuos control, el promedio fue de 51,12 μM (mín. –máx.: 0,48 – 249,00); mientras que en los pacientes VIH positivo el valor promedio fue de prácticamente el doble: 95,15 μM (mín. –máx.: 0,48 -250). Sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p-valor: 0,1456).

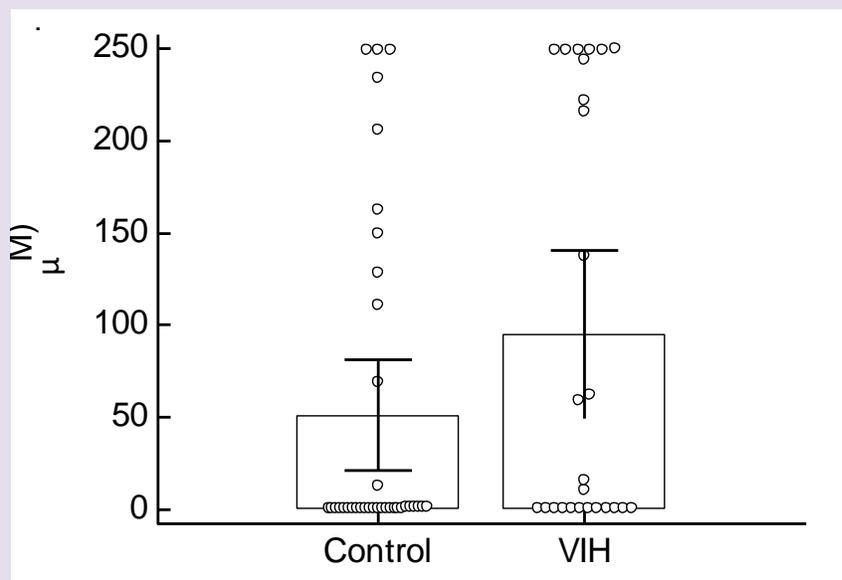


Fig 5. Promedio \pm error estándar de NO en individuos controles y pacientes VIH positivos. (p-valor: 0,1456)

En el grupo de pacientes infectados por VIH, solamente un 11,54% (3 pacientes) presentó CV-VIH detectable de 47 copias/mL (Log 1,67), 56 copias/mL (Log,75) y 2670 copias/mL (Log 3,43) respectivamente. Además todos mostraron valores de LT-CD4+ mayores de 250 células/mm³ y tenían más de dos años de diagnóstico de la primo infección.

Se analizó si existía correlación entre los valores de IL-6 de los pacientes con VIH, y los valores de laboratorio (Fig 6): de triglicéridos, glucemia, HDL, células CD4+ y CV-VIH. En ninguno de los casos analizados se observó relación entre las variables, y por ende, se puede considerar que las variables son independientes.

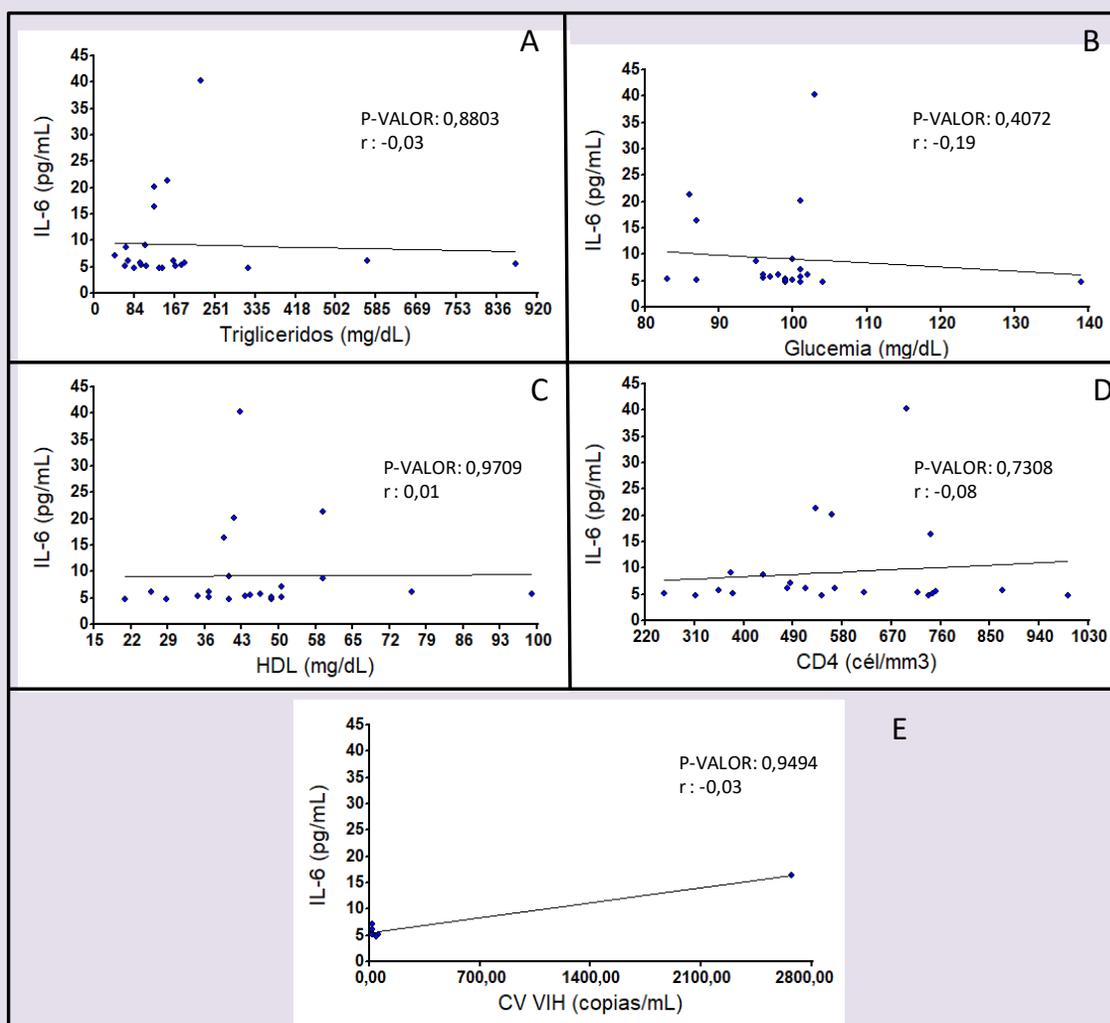


Fig 6. Grado de correlación entre IL-6 y A) Triglicéridos; B) Glucemia; C) HDL, D) CD4 y E) CV VIH, en pacientes VIH.

Además un 65,38% de los pacientes VIH positivos presentaron comorbilidades no SIDA, un 15,38% no presentó hasta el momento y un 19,23% no obtuvimos información (Fig 7). Las comorbilidades que presentaron los pacientes fueron: cáncer de colon (4%), HPV cervical (4%), hipotiroidismo (4%), hipertiroidismo (4%), hígado graso (4%), várices en miembros inferiores (4%), gastritis (4%), dermatitis (4%), lipodistrofia (4%), linfoma (4%), hepatitis B (4%), hepatitis C (4%), hipertensión (4%), sarcoma de Kaposi (8%), obesidad (12%) e hiperlipemia (12%).

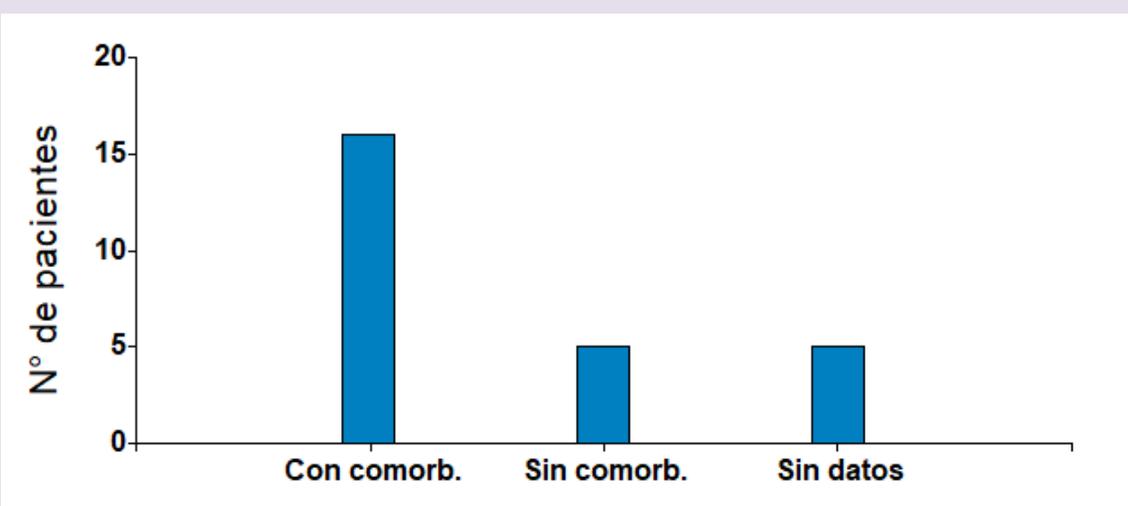


Fig 7. Representación del número de pacientes VIH positivos con o sin comorbilidades, y de aquellos que no tienen datos en cuanto a la presencia o ausencia de comorbilidades.

Al analizar los 4 analitos estudiados, y relacionarlos con el hecho de que los pacientes tuvieran o no comorbilidades, los resultados no fueron estadísticamente significativos. En la tabla 2 podemos observar que para los valores de IL-6, PCR-hs y de Dímero D, los valores promedio fueron prácticamente iguales en ambos grupos. Sin embargo, en el caso del NO, los pacientes con comorbilidades tuvieron valores más elevados que los pacientes sin comorbilidades. Los pacientes con comorbilidades tuvieron un promedio de 3,09 μM (mín – máx: 0,49 -10,4), mientras que los pacientes sin comorbilidades tuvieron un promedio de 129,72 (mín – máx: 0,49 – 250).

Tabla 2. Valores de IL-6, NO, PCR y Dímero D en pacientes VIH positivos, según si presentaron comorbilidades o no.

Variable	Sin comorbilidades			Con comorbilidades			p - valor
	Media	Mín	Máx	Media	Mín	Máx	
IL-6 (pg/mL)	9,96	5,04	20,05	9,53	4,7	40,35	0,4924
NO (μM)	3,09	0,49	10,4	129,72	0,49	250	0,069
PCR-hs (mg/L)	1,93	1,1	2,7	1,99	0,1	5,7	0,7536
Dímero D (ug de UEF/mL)	0,29	0,25	0,37	0,3	0,25	0,41	0,9999

DISCUSIÓN

En los últimos 30 años se ha descrito ampliamente la existencia de alteraciones lipídicas en el curso de infecciones tanto agudas como crónicas y de diversas etiologías. Las modificaciones más frecuentes han sido la elevación de triglicéridos plasmáticos y/o descenso del colesterol total, que inicialmente se interpretaron como expresión de la movilización de las reservas energéticas en el contexto de una respuesta adaptativa a la infección^{38,39,40,41,42,43}. Posteriormente, se verificó que las infecciones pueden aumentar los triglicéridos plasmáticos por una disminución del

aclaramiento de las lipoproteínas circulantes, resultado de una actividad reducida de la lipoproteinlipasa o por una estimulación de la síntesis hepática de lípidos a través bien del incremento en la síntesis de ácidos grasos o de la reesterificación de los ácidos grasos derivados de la lipólisis⁴⁴. Al igual que en la bibliografía, en nuestro estudio pudimos observar diferencias significativas en los niveles de HDL y triglicéridos séricos entre los pacientes VIH positivos en relación a los donantes controles. En este sentido, las citocinas son los mediadores responsables de las alteraciones, fundamentalmente factor de necrosis tumoral (TNF), interleukina-1 (IL-1) e interferones (IFN).

Si bien el hígado no es considerado un órgano blanco en la infección por el VIH, hay evidencias que indican que las células hepáticas son infectadas por dicho virus y que por lo tanto el hígado participaría en la patogénesis de la enfermedad. Tanto las células de Kupffer como las endoteliales expresan CD4 sobre sus membranas, lo que explica que sean los principales reservorios del virus. Aunque los hepatocitos no expresan la molécula de CD4, son igualmente infectados. Múltiples pueden ser las causas responsables de alteración hepática en los pacientes con infección por VIH: fármacos, infecciones oportunistas, sepsis, malnutrición, neoplasias, alcohol, adicción a drogas, diabetes y obesidad. Sin embargo, las dos causas más frecuentes de alteración hepática siguen siendo la coinfección por virus hepatotropos y la toxicidad por el tratamiento antirretroviral⁴⁵. En nuestra cohorte, los dos pacientes que presentaron coinfección con virus de la Hepatitis B y C no mostraron transaminasas alteradas, siendo menores a 50 mUI/mL.

Antes de existir el TARV, la hiperglucemia era poco frecuente en los pacientes con infección por el VIH, ya que se trataba de una población predominantemente joven en la que la prevalencia de diabetes es baja. Sin embargo, en la literatura se observa intolerancia a la glucosa debida a resistencia a la insulina en hasta el 40% de quienes toman antirretrovirales⁴⁶. Estos medicamentos también dificultan el control de la glucemia y favorecen la descompensación cetoacidósica en los enfermos que previamente tenían diabetes. Otros medicamentos que pueden ocasionar hiperglucemia son los corticosteroides y la pentamidina, que se utilizan en el tratamiento de algunas infecciones oportunistas, el megestrol, que se emplea como estimulante del apetito en pacientes con enfermedad por el VIH, y la didanosina⁴⁷. En este sentido, en la cohorte analizada observamos diferencia estadísticamente significativa en los niveles séricos de glucemia.

La coinfección por los virus de la Hepatitis B y C es causa frecuente de enfermedad hepática crónica en pacientes VIH positivos, lo que puede atribuirse al hecho de que se compartan los medios de transmisión y los factores epidemiológicos entre los tres virus⁴⁸. Los pacientes coinfectados tienen cargas virales de Hepatitis B más elevadas que los mono infectados, con un mayor riesgo y un tiempo menor de evolución a la cirrosis. La presencia del VIH modifica la historia natural de la infección por Hepatitis C, acelerando el avance de la enfermedad hepática en las personas coinfectadas. Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades ([Centers for Disease Control and Prevention, CDC](http://www.cdc.gov)), aproximadamente 25% de las personas con el VIH en los Estados Unidos también tienen Hepatitis C y un 10% Hepatitis B. En Córdoba, existe una incidencia de coinfección de VIH y Hepatitis C del 12,3%⁴⁹ y en la cohorte analizada en el presente trabajo, observamos que sólo un 4% de los

pacientes presentan coinfección con el Virus de la Hepatitis B y C, pero es necesario un mayor número de pacientes para obtener un valor representativo.

Duprez y colaboradores evaluaron el valor predictivo de los niveles de IL-6, PCR-hs y dímero D en 252 pacientes infectados por VIH bajo TARV, con evento cardiovascular versus sin evento cardiovascular y encontraron diferencias significativas en todos los parámetros analizados²³. Por otro lado, Lewis demostró que en pacientes infectados por VIH existe un mayor riesgo de muerte asociado a valores elevados de IL-6 y dímero D. Al comparar éstos parámetros en pacientes bajo TARV continuado versus supresión del TARV guiado con el recuento de LT-CD4+ encontraron valores más elevados en el segundo caso en donde sugieren más estudios para atribuir este cambio a la medicación⁵⁰. Kalayjian y colaboradores también observaron valores elevados de IL-6 y otros receptores celulares solubles en pacientes VIH antes de iniciar TARV con respecto a sujetos controles²⁸. En nuestro trabajo, si bien observamos una tendencia de valores elevados de IL-6, PCR-hs y dímero D en pacientes con VIH, esta diferencia no llega a ser estadísticamente significativa. A su vez, todos se encontraban bajo TARV por más de dos años con adherencia al tratamiento reflejado en los niveles de LT-CD4+ y CV-VIH, con la excepción de tres pacientes que tuvieron CV-VIH detectables. De los pacientes que obtuvimos datos clínicos, ninguno de ellos presentó algún evento cardiovascular. En cuanto a los valores de NO, Sanmarco y colaboradores demostraron que la elevación de este parámetro está asociado a una hipofunción del SI. Nosotros también detectamos niveles mayores de NO séricos en pacientes infectados por VIH pero éstos no llegaron a ser estadísticamente significativos^{36,37}. En concordancia con los resultados anteriores, se observó que en los pacientes VIH positivos de nuestra cohorte no existe correlación entre los niveles séricos de IL-6 y triglicéridos, glucemia y HDL, parámetros relacionados con eventos cardiovasculares; al igual que el en los valores de LT-CD4+ y CV-VIH. La ausencia de diferencias significativas observadas entre los marcadores inflamatorios determinados, podría a su vez evidenciar que el tratamiento al que son sometidos los pacientes infectados es eficiente en lograr disminuir el sostenido estado inflamatorio que se observaría en pacientes no tratados.

Los actuales TARV han convertido a la infección por VIH en una enfermedad crónica generando en la actualidad otros problemas como enfermedades cardiovasculares, renales, hepáticas y óseas, que representan un reto notable para los médicos que tratan estos pacientes. El nuevo [estudio publicado en JAMA Cardiology, liderado por Matthew Freiberg](#), hizo un seguimiento de 98.000 veteranos de guerra estadounidenses (48 años en promedio, 97% varones, 32% infectados con HIV) durante 7 años. Comparados con quienes no estaban infectados, los pacientes con VIH tuvieron un aumento del 40% en el riesgo de insuficiencia cardíaca de cualquier tipo. El estadio y la gravedad de la infección VIH/SIDA también influyeron en el desarrollo de la insuficiencia cardíaca. Los pacientes con un conteo de LT-CD4+ menor a 200 células/mL tuvieron más riesgo que los que tenían un conteo mayor a 500 células/mL de sangre. En cuanto a la CV-VIH, los que tenían al menos 500 copias del ARN viral tenían un mayor riesgo de padecer insuficiencia cardíaca. Señalan en dicho trabajo que la causa de aparición de insuficiencia cardíaca en estos pacientes es multifactorial: la infección viral podría estar involucrada en forma directa, la activación de fenómenos inmunes e inflamatorios, el mayor riesgo de desarrollo de enfermedad coronaria y la acción de la medicación⁵¹. En los pacientes VIH positivos del presente estudio no se observaron diferencias significativas cuando se

comparó la población infectada con comorbilidades versus aquella sin comorbilidades para los marcadores inflamatorios IL-6, PCR-hs y dímero D. Solamente en NO hubo diferencia significativa. En la infección por Trypanosomacruzi, Sanmarco y colaboradores demuestran que linfocitos CD8+ en sangre periférica muestran un incremento en la producción de NO, un aumento de apoptosis, pérdida de la cadena TCR ζ y niveles disminuidos de CD107a, un marcador de degranulación. Una estimulación con IL-6, induce un aumento de nitración en esta población incrementando así su supervivencia³⁶, por lo tanto sería interesante ampliar el estudio de más citocinas que nos ayuden a evaluar si el aumento de NO que observamos en pacientes se encuentra relacionado a la presencia de comorbilidades. Cabe destacar, que algunas comorbilidades registradas podrían conllevar a un evento cardiovascular, como obesidad, hígado graso, hiperlipemia e hipertensión, pero serían necesarios estudiar más marcadores clínicos de enfermedad cardiovascular como por ejemplo, engrosamiento de la placa endotelial de la arteria carotídea con el fin de evaluar estos parámetros con marcadores serológicos de inflamación, y de esta manera utilizarlos como marcadores pronóstico de comorbilidades no asociadas a SIDA.

CONCLUSIÓN

En conjunto, nuestros resultados revelan que los pacientes infectados por VIH presentan alteraciones significativas en su perfil lipídico junto a una incrementada glucemia, eventos que podrían ser responsables de las alteraciones cardiovasculares frecuentemente asociadas a la evolución del SIDA. Así, este trabajo en acuerdo a la bibliografía, alerta sobre la importancia del seguimiento clínico-metabólico de los pacientes infectados. Por otro lado, si bien observamos claras tendencias en cuanto a los niveles de IL-6, PCR-hs, dímero D y NO séricos entre los pacientes infectados y los donantes controles, posiblemente debido al limitado número de casos analizados no se logran establecer diferencias significativas, por lo que como proyección planeamos incrementar el número de pacientes para poder determinar su utilidad como marcadores predictivos de enfermedades cardiovasculares asociadas a la infección. A su vez podrían dosarse otras interleucinas que participan en la vía inflamatoria. Nuestro trabajo aporta los primeros resultados tendientes a establecer las posibles correlaciones entre marcadores inflamatorios y comorbilidades en pacientes infectados con VIH sometidos a TARV en la población local de la Provincia de Córdoba.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo y familia por su apoyo continuo.

A la Dra. María del Pilar Aoki, por colaborar con su conocimiento y apoyo continuo en la carrera de Especialización en Inmunología.

A la comisión de la Especialidad en Bioquímica Clínica en Inmunología por su colaboración con el reactivo utilizado y su colaboración para llevar a cabo su trabajo.

Al Servicio de Laboratorio de Inmunología del Hospital de Niños de la Santísima Trinidad.

A LACE Laboratorios por su colaboración con los reactivos utilizados.

Al Dr. Marcelo Martins por su colaboración en la recopilación de datos clínicos.

A Lourdes Aparicio por su colaboración en la estadística mostrada.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Greene WC. A history of AIDS: looking back to see ahead. *Eur J Immunol. Suppl* (2007); 1:S94-102.

[Mogensen T](#), [Melchjorsen J](#), [Larsen CS](#) et al. Innate immune recognition and activation during HIV infection. *Retrovirology* (2010); 22;7:54.

The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). AIDS info. <http://aidsinfo.unaids.org>. 03 de Septiembre de 2017.

[Carter CA](#), [Ehrlich LS](#). Cell biology of HIV-1 infection of macrophages. *Annurev.micro* (2008); 62:425-43.

[Trine H Mogensen](#), [Jesper Melchjorsen](#), [Carsten S Larsen](#) et al. Innate immune recognition and activation during HIV infection (2010). *Retrovirology* 7: 54.

Liu Z, Cumberland WG, Hultin LE, et al. Elevated CD38 antigen expression on CD8+ T cells is a stronger marker for the risk of chronic HIV disease progression to AIDS and death in the Multicenter AIDS Cohort Study than CD4+ cell count, soluble immune activation markers, or combinations of HLA-DR and CD38 expression (1997). *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 16:83–92.

Giorgi JV, Hultin LE, McKeating JA, et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage (1999). *J Infect Dis.* 179:859–70.

Deeks S, Kitchen C, Liu L, et al. Immune activation set point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load. (2004) *Blood* 104:942–7.

Hunt P, Brenchley J, Sinclair E, et al. Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy (2008). *J Infect Dis.* 197:126–33.

Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, et al. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy (2003). *J Infect Dis.* 187(10):1534–1543.

Lane HC, Masur H, Edgar LC, et al. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (1983). *N. Eng. J. Med.* 309:453–8.

Hellerstein M, Hanley MB, Cesar D, et al. Directly measured kinetics of circulating T lymphocytes in normal and HIV-1-infected humans (1999). *Nat Med.* 5:83–9.

Hazenber MD, Stuart JW, Otto SA, et al. T-cell division in human immunodeficiency virus (HIV)-1 infection is mainly due to immune activation: a longitudinal analysis in patients before and during highly active antiretroviral therapy (HAART) (2000). *Blood* 95:249–55.

Spronk HM1, van der Voort D, Ten Cate H. Blood coagulation and the risk of atherothrombosis: a complex relationship. *Thromb J.* 2004 Dec 1;2(1):12.

Valdez H, Lederman M. Cytokines and cytokine therapies in HIV infection (1997). *AIDS Clin Rev.* 187–228. Levi M, van der Poll T. Two-way interactions between inflammation and coagulation. *Trends Cardiovasc Med* 2005;15:254-9.

Maeve M. Coogan, Tao Xu, Guang-yan Yu et al. Virus-Host Interactions in HIV Pathogenesis (2011). [Adv Dent Res.](#); 23(1): 13–18.

Anthony KB, Yoder C, Metcalf JA, et al. Incomplete CD4 T cell recovery in HIV-1 infection after 12 months of highly active antiretroviral therapy is associated with ongoing increased CD4 T cell activation and turnover (2003). *J Acquir Immune Defic Syndr.* 33(2):125–133.

Connolly NC, Riddler SA, Rinaldo CR. Proinflammatory cytokines in HIV disease—a review and rationale for new therapeutic approaches (2005). *AIDS Rev.* 7(3):168–180.

Marchetti G, Gori A, Casabianca A, et al. Comparative analysis of T-cell turnover and homeostatic parameters in HIV-infected patients with discordant immune-virological responses to HAART (2006). *AIDS* 20(13):1727–1736.

Lederman MM, Calabrese L, Funderburg NT, et al. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells (2011). *J Infect Dis.* 204(8):1217–1226.

The Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group. CD4+ Count-Guided Interruption of Antiretroviral Treatment (2006). *N Engl J Med*; 355:2283–2296.

Kuller LH, Tracy R, Belloso W, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection (2008). *PLoS Med.* 5(10):e203.

[Duprez DA](#), [Neuhaus J](#), [Kuller LH](#) et al. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals (2012). [PLoS One](#), 7(9):e44454.

Sandler NG, Wand H, Roque A, et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection (2011). *J Infect Dis.* 203(6):780–790.

Breen EC, Rezai AR, Nakajima K, et al. Infection with HIV is associated with elevated IL-6 levels and production (1990). *J Immunol* 144(2):480–484.

Lafeuillade A, Poizot-Martin I, Quilichini R, et al. Increased interleukin-6 production is associated with disease progression in HIV infection (1991). *AIDS.* 5(9):1139–1140.

Mildvan D, Spritzler J, Grossberg SE, et al. Serum neopterin, an immune activation marker, independently predicts disease progression in advanced HIV-1 infection (2005). *Clin Infect Dis.* 40(6):853–858.

Kalayjian RC, Machekano RN, Rizk N, et al. Pretreatment levels of soluble cellular receptors and interleukin-6 are associated with HIV disease progression in subjects treated with highly active antiretroviral therapy (2010). *J Infect Dis.* 201(12):1796–1805.

[INSIGHT START Study Group](#), [Lundgren JD](#), [Babiker AG](#) et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection (2015). [N Engl J Med.](#) 373(9):795–807.

Grinspoon S K, Grunfeld C, Kotler D et al. Initiative to Decrease Cardiovascular Risk and Increase Quality of Care for Patients Living With HIV/AIDS (2008). *Circulation* 118:198–210.

Silverberg M, Chao C, Leyden W et al. HIV infection and the risk of cancers with and without a known infection cause (2009). *AIDS* 23(17): 2337–2345.

Tseng Z, Secemsky E, Dowdy D et al. Sudden Cardiac Death in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection (2012). *J Am CollCardiol.* 59(21): 1891–1896.

Neuhaus J, Jacobs D, Baker J et al. Markers of Inflammation, Coagulation and Renal Function Are Elevated in Adults with HIV Infection (2010). *J Infect Dis.* 201(12): 1788–1795.

Hunt P, Landay A, Sinclair E et al. A Low T Regulatory Cell Response May Contribute to Both Viral Control and Generalized Immune Activation in HIV Controllers (2011). *PLoS ONE* 6(1): e15924.

Ledwaba L, Tavel J, Khabo P et al. Pre-ART Levels of Inflammation and Coagulation Markers Are Strong Predictors of Death in a South African Cohort with Advanced HIV Disease (2012). *PLoS ONE* 7(3): e24243.

Sanmarco, L. M. et al. IL-6 Improves the Nitric Oxide-Induced Cytotoxic CD8+ T Cell Dysfunction in Human Chagas Disease (2016). *Front Immunol* 7, 626.

Sanmarco, L. M. et al. IL-6 promotes M2 macrophage polarization by modulating purinergic signaling and regulates the lethal release of nitric oxide during *Trypanosoma cruzi* infection (2017). *BiochimBiophys Acta* 1863, 857-869.

Constans J, Pellegrin J L, Peuchant E, et al. Plasma lipids in HIV-infected patients: a prospective in 95 patients. *Eur J ClinInvest* 1994; 24: 416-420.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *ClinChem* 1972;18:499-502

Gallin J I, Kaye D, O'Leary WM. Serum lipids in infection. *N Engl J Med* 1969; 281: 1081-1086.

Álvarez C, Ramas A. Lipids, lipoproteins and a poprotins in serum during infection. *ClinChem* 1986; 32: 142-145

Fiser R H, Denniston J C, Beisel W R. Infection with *Diplococcus pneumoniae* and *Salmonella tiphimurium* in monkeys: changes in plasma lipids and lipoproteins. *J InfectDis* 1972; 125: 54-60.

KerttulaY, Weber T H. Serum lipids in viral and bacterial meningitis. *Scand J InfectDis* 1986; 18: 211-215.

Grunfeld C, Pang M, Doerrler W. Lipids, lipoproteins, triglyceride Clearance, and Cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J ClinendocrinolMetab* 1992; 74(5): 1045-1052.

Reisler R.B, ServossJ, Sherman K et al. Incidence of hepatotoxicity and mortality in 21 adult antiretroviral treatment trials. 1st IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment. Buenos Aires 2001. Abstract 43.

Hadigan C, Meigs JB, Corcoran C, Rietschel P, Piecuch S, Basgoz N, et al. Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factors in adults with human immunodeficiency virus infection and lipodystrophy. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 130-9.

Kilby JM, Tabereaux PB. Severe hyperglycemia in an HIV clinic: preexisting versus drug-associated diabetes mellitus. *J AcquirImmuneDeficSyndrHumRetrovirol* 1998; 17: 46-50.

Kim AY, Chung RT, Polsky B. Human immunodeficiency virus and hepatitis B and C coinfection: pathogenic interactions, natural history and therapy. *AIDS Clin Rev.* 2000-2001; 263-306.

Viviana Ré, Sandra Gallego, Adrián Farías et al. Hepatitis C and HIV coinfection in central region of Argentina: prevalence, genotype characterization and risk factors (2008). *EnfermInfeccMicrobiolClin* 26(7):423-5.

Lewis H. Kuller, Russell Tracy, Waldo Bellosso et al. Inflammatory and Coagulation Biomarkers and mortality in Patients with HIV Infection (2008). *PLoS ONE* 5(10): e203.

Freiberg M, Chang C, Kuller L et al. HIV Infection and the Risk of Acute Myocardial Infarction (2013). *JAMA Intern Med.* 173(8): 614–622.