

Investigación

Libre acceso

Efecto de las diferentes terapias de combinación sobre marcadores de estrés oxidativo en pacientes de Camerún infectados por el VIH

Judith L. Ngondi^{*1}, Julius Oben¹, David Musoro Forkah¹, Lucein Honore Etame¹ y Dora Mbanya²

Dirección: ¹Nutrition, HIV and Health Research Unit, Department of Biochemistry, University of Yaounde I, Cameroon (Camerún) y ²Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, University of Yaounde I, Cameroon (Camerún).

Correo electrónico: Judith L. Ngondi* - jlngondi@yahoo.com; Julius Oben - juliusoben@hotmail.com; David Musoro Forkah - letame@yahoo.fr; Lucein Honore Etame - dfmusoro@yahoo.com; Dora Mbanya - dmbanya@hotmail.com

* autor para correspondencia

Publicado: 22 de julio de 2006

Recibido: 06 de octubre de 2005

AIDS Research and Therapy 2006, 3:19 doi:10.1186/1742-6405-3-19

Aceptado: 22 de julio de 2006

Este artículo está disponible en: <http://www.aidsrestherapy.com/content/3/1/19>

© 2006 Ngondi et al; licenciatario BioMed Central Ltd.

Este es un artículo de libre acceso distribuido bajo las condiciones de la licencia de atribución de Creative Commons (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), la cual permite el uso sin restricciones, la distribución y la reproducción en cualquier medio, siempre que se cite el trabajo original.

Resumen

En el estudio se evaluó el efecto de algunas terapias antirretrovirales de gran actividad (TARGA), utilizadas en el tratamiento del VIH/sida en Camerún, sobre marcadores de estrés oxidativo tales como malondialdehído (en forma de SRAT), albúmina y contenido de grupos carbonilo y sulfhidrilo en proteínas. Ochenta y cinco pacientes VIH-seropositivos (34.8 ± 9.3 años) recibieron tres terapias antirretrovirales de gran actividad diferentes (pacientes TARGA), 65 pacientes VIH-seropositivos (32.2 ± 10.9 años) no recibieron terapia (pacientes pre-TARGA) y 90 pacientes que no estaban infectados por el VIH (32.6 ± 9.3 años) fueron los grupos de control. Los niveles plasmáticos de SRAT como así también los de carbonilo fueron significativamente superiores en los pacientes TARGA en comparación con los pacientes pre-TARGA o los controles no infectados por el VIH. Por otra parte, el contenido de grupos sulfhidrilo en proteínas no fue diferente para los pacientes TARGA en comparación con los pacientes pre-TARGA pero ambos fueron significativamente inferiores a los de los controles no infectados por el VIH ($p < 0.0001$, 0.001). La Terapia de combinación I [estavudina (80 mg) + lamivudina (600 mg) + nevirapina (400 mg) + zidovudina (600 mg)] produjo una significativa reducción ($p < 0.05$) en la concentración plasmática de los grupos sulfhidrilo proteicos como así también de las SRAT en comparación con la Terapia II [estavudina (80 mg) + lamivudina (300 mg) + nevirapina (400 mg)] o con la Terapia de combinación III [zidovudina (600 mg) + lamivudina (300 mg) con efavirenz (600 mg)] ($p < 0.05$). El contenido de antioxidante, vitamina C, fue inferior en el plasma de los pacientes que recibieron la Terapia I en comparación con el de los pacientes que recibieron la Terapia II ($p < 0.01$) y la Terapia III ($p < 0.001$).

Por lo tanto, la infección por el VIH aumenta el proceso de estrés oxidativo mientras que la terapia antirretroviral de combinación aumenta la oxidación proteica como así también el nivel de estrés oxidativo ya presente en la infección por el VIH.

Introducción

En todo el mundo se recomienda el uso de terapias antirretrovirales (TAR) para el tratamiento del VIH/sida. Existen diferentes tipos de TAR o terapias

de combinación; la prescripción y el uso de una terapia en particular dependen de la tolerabilidad, el costo y los objetivos terapéuticos. Por lo general, la iniciación de la terapia, que depende del diagnóstico como así también de los parámetros serológicos, se produce cuando el recuento de linfocitos CD4 es inferior a los 200/mm³. La OMS actualmente recomienda una terapia de primera línea con dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (ITIN) y un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleósidos (ITINN) [1]. En razón de los bajos ingresos económicos de nuestra población, el Ministerio de Salud Pública de Camerún busca constantemente medicamentos genéricos que por lo general son más económicos. Con frecuencia se prescribe una combinación de nevirapina, estavudina y lamivudina o de lamivudina con zidovudina. Se organizan diferentes seminarios de información y actualización para capacitar a los facultativos médicos y al personal sanitario en el uso y la prescripción de estas terapias, que todavía varían de un centro de salud a otro. Algunas de las opciones de tratamiento utilizadas pueden dar como resultado cambios bioquímicos y fisiológicos, por ejemplo: daños oxidativos originados en la presencia de radicales libres o en la ausencia de antioxidantes.

Los radicales libres son compuestos que poseen un electrón no apareado que los hace altamente reactivos y capaces de provocar un daño oxidativo a la totalidad de las principales macromoléculas de las células, como por ejemplo los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos. Una familia importante de radicales libres es la especie reactiva del oxígeno, derivada metabólicamente del oxígeno molecular a través de aniones superóxido. El ataque oxidativo a las proteínas da como resultado la formación de carbonilos proteicos [2] con la pérdida frecuente de funcionalidad de la proteína madre. Los ácidos grasos poliinsaturados, que son los componentes principales de las membranas celulares, también pueden sufrir el ataque de los radicales libres y generar productos de peroxidación lipídica tales como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-nonenal. Bajo circunstancias normales, el cuerpo se protege de dichos daños mediante un cuidadoso equilibrio entre prooxidantes y antioxidantes. En los espacios extravasculares, los grupos sulfhidrilo de las proteínas plasmáticas –como por ejemplo la albúmina plasmática– sirven como antioxidantes [3]; las enzimas y las sustancias químicas de depuración tales como las vitaminas C y E también tienen actividades antioxidantes. Ciertos alimentos son buenas fuentes de antioxidantes y de allí la importancia de incluirlos en el tratamiento de enfermedades acompañadas de estrés oxidativo. Si bien se conocen varios efectos secundarios provocados por los medicamentos para el VIH/sida tales como –entre otros– la lipodistrofia y el aumento en el riesgo de enfermedad cardiovascular tal como ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares, no existen indicios suficientes como para demostrar la función que desempeñan los radicales libres en el daño oxidativo que inducen y que tiene lugar en la infección

por el VIH/sida. En este estudio se evaluó el estado oxidante y antioxidante de pacientes VIH-seropositivos de Camerún.

Métodos

Pacientes

Los pacientes eran considerados aptos para la inclusión si tenían una infección confirmada por el VIH, eran mayores de 18 años y no habían tomado medicamentos antirretrovirales previamente (pacientes pre-TARGA) o recibido terapia triple durante por lo menos 3 a 6 meses. Se reclutaron 150 pacientes VIH-seropositivos ambulatorios provenientes del Hospital de Yaounde, a quienes se los clasificó de acuerdo con su sexo, estado inmune tal como el recuento de linfocitos CD4+ (linfocitos/mm³) y mediciones de carga viral. Sesenta y cinco pacientes VIH-seropositivos no recibieron forma alguna de terapia antiviral mientras que 85 recibieron una de las diferentes terapias que se describen más abajo. Estos individuos no mostraron evidencia serológica de infección por el VHB o VHC. El grupo de control comprendía 90 sujetos de investigación sanos, de edades similares y seleccionados al azar, que no presentaban evidencias serológicas de infección por el VIH o VHC, como así tampoco resultados de laboratorio anormales (el recuento sanguíneo y los niveles de ASAT y de ALAT se encontraban todos dentro del rango normal).

Todos los sujetos de investigación dieron su consentimiento informado antes de participar en el estudio y el comité de ética local aprobó el proyecto.

Diferentes terapias antirretrovirales de gran actividad (TARGA) utilizadas

Los pacientes que recibieron tratamiento antiviral siguieron una de las terapias diarias que se indican a continuación:

Terapia I (n = 40): combinación de medicamentos genéricos en dosis fijas de estavudina + lamivudina + nevirapina, asociada con una combinación de medicamentos genéricos en dosis fijas de zidovudina + lamivudina;

Terapia II (n = 20): combinación de medicamentos genéricos en dosis fijas de estavudina + lamivudina + nevirapina;

Terapia III (n = 25): combinación de medicamentos genéricos en dosis fijas de zidovudina + lamivudina, asociada con efavirenz.

Obtención de muestras y tratamiento

Se recogió sangre venosa (10 ml) después de un ayuno nocturno de 12 horas de todos los sujetos de investigación y se la dividió entre un tubo heparinizado y un tubo que contenía tetraacetato de etilendiamina (TAED). Luego de centrifugarla a razón de 3 000 g durante 10 minutos a 4 °C, se separó una muestra del plasma heparinizado para el análisis de los sulfhidrilos y carbonilos proteicos. También se

separaron muestras de plasma que contenían TAED para medir la vitamina C y el MDA. Todas las muestras fueron conservadas a -80°C y analizadas dentro de las 2 semanas.

Análisis bioquímicos en plasma

Las proteínas totales se determinaron usando el método de Biuret que se obtiene en el mercado [4]. La peroxidación lipídica se midió mediante el método del ácido tiobarbitúrico descrito en [5] y los resultados se expresaron en forma de $\mu\text{mol/l}$. Las concentraciones de albúmina y de los grupos carbonilo y sulfhidrilo proteicos se midieron espectrofotométricamente usando los métodos de [6–8]; la concentración plasmática de la vitamina C se determinó mediante el método de Roe y Kuether [9].

Análisis estadístico

Los valores se expresan como la media \pm error estándar de la media (EEM). Los datos se analizaron usando el paquete SPSS y la normalidad de la

distribución de los datos se evaluó empleando el gráfico de probabilidad normal. Las variables se distribuyeron normalmente y las comparaciones se realizaron utilizando el análisis de varianza (la prueba ANOVA, por sus siglas en inglés). Las diferencias entre los grupos se evaluaron empleando el procedimiento de Bonferroni. Se utilizaron análisis de regresión lineal múltiple para evaluar la influencia del IMC, la edad, el sexo, el recuento de linfocitos CD4 y la carga viral sobre marcadores de estrés oxidativo en pacientes TARGA. Se consideró que un valor de p igual a 0.05 era significativo.

Resultados

Características inmunológicas

El recuento de linfocitos CD4 fue significativamente inferior ($p < 0.001$) en los pacientes TARGA en comparación con los pacientes pre-TARGA (Tabla 1). Se halló que las cargas virales también eran significativamente superiores para los pacientes TARGA.

Tabla 1: características de los pacientes VIH-seropositivos que recibieron terapia antiviral, VIH-seropositivos que no recibieron terapia y del grupo de control.

	VIH-seronegativos	pre-TARGA	TARGA
n	90	65	85
Sexo (M/F)	20/70	27/38	30/55
Edad (años)	34 ± 9.15	33.71 ± 8.56	36.8 ± 8.91
IMC (kg/m^2)	25.31 ± 2.44	25.01 ± 3.66	25.19 ± 4.70
CD4 (linfocitos/ mm^3)	/	496 ± 163	266 ± 137^a
Carga viral	/	26754 ± 8347	$111136,33 \pm 25281^a$

Se observan diferencias significativas ($^a p < 0.0001$) al comparar con los pacientes VIH-seropositivos que no recibieron terapia (pre-TARGA).

Análisis plasmático

Las mediciones de la oxidación lipídica y proteica mostraron niveles significativamente elevados de SRAT ($p < 0.0001$, 0.0001) y niveles más bajos de carbonilo ($p < 0.0001$, 0.0001) en pacientes VIH-seropositivos que recibieron terapia antiviral en comparación con los niveles de los pacientes que no recibieron terapia o los controles no infectados por el VIH (Tabla 2). Por otra parte, el grupo sulfhidrilo proteico en el plasma (Tabla 3) no difirió entre los pacientes TARGA y los pre-TARGA pero ambos fueron significativamente inferiores al de los controles no infectados por el VIH ($p < 0.0001$, 0.001). Los niveles plasmáticos de albúmina fueron inferiores en los pacientes VIH-seropositivos y no se halló diferencia en el nivel de vitamina C (Tabla 3). Los

pacientes que recibieron las Terapias I, II y III presentaron concentraciones inferiores de carbonilo ($p < 0.001$) y concentraciones elevadas de SRAT ($p < 0.001$) en comparación con los pacientes pre-TARGA (Tabla 4). Las concentraciones plasmáticas del grupo sulfhidrilo de los pacientes que recibieron la Terapia II ($p = 0.01$) fueron inferiores comparadas con las de los pacientes pre-TARGA pero su nivel de albúmina ($p < 0.01$) fue superior comparado con el de los pacientes pre-TARGA. Las concentraciones de vitamina C no difirieron entre los pacientes pre-TARGA y los que recibieron las Terapias II y III pero los pacientes que recibieron la Terapia I tuvieron niveles reducidos de vitamina C comparados con los de los pacientes pre-TARGA ($p < 0.01$) y los que recibieron las Terapias II y III ($p < 0.001$) (Tabla 5).

Tabla 2: efecto de la infección por el VIH y la terapia antirretroviral los marcadores de estrés oxidativo (carbonilos y SRAT).

Grupos	VIH-seronegativos	VIH-seropositivos	
	(n = 90)	pre-TARGA (n = 65)	TARGA (n = 85)
Carbonilos (nmol/mg de proteína)	1.07 ± 0.27	1.34 ± 0.98^a	0.84 ± 0.90^a
SRAT ($\mu\text{mol/l}$)	1.3 ± 0.12	4.2 ± 0.77^a	6.28 ± 1.3^{ab}

Se observan diferencias significativas ($^a p < 0.0001$) al comparar con el grupo de control (VIH-seronegativos) y ($^b p < 0.0001$) al comparar con los pacientes VIH-seropositivos que no recibieron terapia (pre-TARGA).

Tabla 3: efecto de la infección por el VIH y la terapia antirretroviral sobre los niveles plasmáticos de antioxidantes.

Grupos	VIH-seronegativos	VIH-seropositivos	
	(n = 90)	pre-TARGA (n = 65)	TARGA (n = 85)
Sulfhidrilos (nmol/mg de proteína)	8.03 ± 0.68	4.90 ± 2.78 ^a	3.87 ± 2.85 ^a
Albumina (mol/l)	0.94 ± 0.32	0.41 ± 0.05 ^a	0.49 ± 0.28 ^{ab}
Vitamina C (μmol/l)	27.1 ± 4.22	26 ± 4.01	21.43 ± 4.53

Se observan diferencias significativas (^a p < 0.0001) al comparar con el grupo de control (VIH-seronegativo) y (^b p < 0.0001) al comparar con los pacientes VIH-seropositivos que no recibieron terapia (pre-TARGA).

Tabla 4: efecto de la infección por el VIH y de los diferentes tipos de terapia antirretroviral sobre marcadores de estrés oxidativo (carbonilos y SRAT).

Grupos	VIH-seronegativos		VIH-seropositivos		
	Control (n = 90)	pre-TARGA (n = 65)	Terapia I (n = 40)	Terapia II (n = 20)	Terapia III (n = 25)
Carbonilos (nmol/mg)	1.07 ± 0.27	1.34 ± 0.98 ^a	0.79 ± 0.10 ^{ab}	0.93 ± 0.16 ^b	0.81 ± 0.09 ^{ab}
SRAT (μmol/l)	1.30 ± 0.12	4.20 ± 0.70 ^a	7.02 ± 2.58 ^{ab}	5.92 ± 1.46 ^{ab}	5.84 ± 0.89 ^{ab}

Se observan diferencias significativas (^a p < 0.01) al comparar con el grupo de control (VIH-seronegativos) y (^b p < 0.001) al comparar con los pacientes VIH-seropositivos que no recibieron terapia (pre-TARGA).

Tabla 5: efecto de los diferentes tipos de terapia antirretroviral sobre los niveles plasmáticos de antioxidantes.

Grupos	VIH-seronegativos		VIH-seropositivos		
	Control (n = 90)	pre-TARGA (n = 65)	Terapia I (n = 40)	Terapia II (n = 20)	Terapia III (n = 25)
Sulfhidrilos (nmol/mg de proteína)	8.03 ± 0.68	4.90 ± 2.78 ^a	4.5 ± 2.1 ^a	2.70 ± 1.45 ^{abc}	4.37 ± 2.01 ^a
Albumina (mol/l)	0.94 ± 0.32	0.41 ± 0.05 ^a	0.47 ± 0.24 ^a	0.54 ± 0.31 ^{ab}	0.47 ± 0.29 ^a
Vitamina C (μmol/l)	27.1 ± 4.22	26 ± 4.01	12.9 ± 2.12 ^{ab}	22.9 ± 5.01 ^c	28.5 ± 7.45 ^c

Se observan diferencias significativas (^a p < 0.001) al comparar con el grupo de control (VIH-seronegativos), (^b p < 0.01) al comparar con los pacientes VIH-seropositivos que no recibieron terapia (pre-TARGA) y (^c p < 0.001) al comparar con los pacientes VIH-positivos que recibieron la Terapia I.

Efecto del estado nutricional y del recuento de linfocitos CD4 sobre el daño oxidativo observado en pacientes TARGA

Nuestros resultados mostraron una diferencia no significativa en los niveles de marcadores de estrés oxidativo entre pacientes con y sin recuentos de linfocitos CD4 inferiores a 200/mm³ (Tabla 6).

Tabla 6: comparación de los niveles de marcadores de estrés oxidativo entre pacientes infectados por el VIH con y sin recuentos de linfocitos CD4 < 200/mm³.

	pre-TARGA (n = 65)		TARGA (n = 85)	
	<200	≥ 200	<200	≥ 200
n	28 (43.18%)	37 (56.82%)	44 (51.7%)	41 (48.3%)
IMC (kg/m ²)	23.91 ± 0.64	26.92 ± 1.09 [*]	26.29 ± 1.39	25.22 ± 0.98
Albumina (mol/l)	0.39 ± 0.08	0.57 ± 0.13	0.50 ± 0.10	0.47 ± 0.15
CD4 (linfocitos/mm ³)	93.37 ± 13.01	434.21 ± 71.56 ^{**}	73.26 ± 15.18	341.83 ± 30.44 ^{**}
Sulfhidrilos (nmol/mg de proteína)	4.85 ± 1.30	4.94 ± 2.5	4.30 ± 2.7	3.59 ± 1.20
SRAT (μmol/l)	4.31 ± 0.47	4.82 ± 0.7	6.80 ± 1.62	5.82 ± 1.17
Carbonilos (nmol/mg de proteína)	1.45 ± 0.10	1.17 ± 0.16	0.83 ± 0.20	0.86 ± 0.14

Se observan diferencias significativas (^{**} p < 0.005; ^{**} p < 0.0001) al comparar con la subclase de linfocitos CD4 < 200/mm³.

El efecto del estado nutricional se evaluó usando los criterios del estado de peso y el nivel plasmático de albúmina. El estado del peso se clasificó utilizando el índice de masa corporal en las siguientes categorías: delgado (<20 kg/m²), normal (20–24.9 kg/m²), con sobrepeso u obesidad (>25 kg/m²). Entre los pacientes pre-TARGA, el 33.9% tenía un peso normal y el 66.1% tenía sobrepeso y solamente el nivel de albúmina difirió significativamente entre ambas

categorías (Tabla 7). En el grupo TARGA, el 11.8%, el 49.4% y el 38.8% de los pacientes eran delgados, normales o tenían sobrepeso respectivamente. En este grupo, la oxidación proteica fue alta en los pacientes delgados en comparación con los pacientes normales o los que tenían sobrepeso. Hemos observado una significativa disminución en la capacidad antioxidante (grupos sulfhidrido) tanto en los pacientes delgados como en los que tenían sobrepeso.

Tabla 7: efecto del estado de peso sobre los niveles de marcadores de estrés oxidativo de pacientes infectados por el VIH.

Subclase de IMC (kg/m ²)	pre-TARGA (n = 65)			TARGA (n = 85)		
	20–25	≥ 25	<20	20–25	≥ 25	
n	22 (33.9%)	43 (66.1%)	10 (11.8%)	42 (49.4%)	33 (38.8%)	
IMC (kg/m ²)	22.88 ± 0.48	27.63 ± 0.64	18.61 ± 0.32	23.04 ± 0.37	30.01 ± 0.94	
Albúmina (mol/l)	0.35 ± 0.03	0.51 ± 0.026 ^c	0.57 ± 0.03	0.47 ± 0.027	0.40 ± 0.045	
Sulfhidrilos (nmol/mg de proteína)	5.02 ± 1.48	4.80 ± 2.12	3.60 ± 2.1	5.12 ± 2.5	3.39 ± 0.95 ^b	
SRAT (μmol/l)	4.09 ± 0.57	4.50 ± 0.77	5.57 ± 1.29	6.76 ± 1.50	6.40 ± 1.43	
Carbonilos (nmol/mg de proteína)	0.93 ± 0.14	0.90 ± 0.2	1.09 ± 0.24	0.82 ± 0.15 ^a	0.78 ± 0.11 ^a	

Se observan diferencias significativas (^a p < 0.01) al comparar con la subclase de IMC <20 kg/m² y (^b p < 0.01; ^c P < 0.004) al comparar con la subclase de IMC de 20–25 kg/m².

Una evaluación bioquímica del estado nutricional usando un punto de corte del nivel plasmático de albúmina <3.5 g/dl (507 μmol/l) como indicador de la malnutrición mostró que el 53.9% de los pacientes pre-TARGA y el 74.1% (sic) de los pacientes TARGA tenían un nivel de albúmina inferior (Tabla 8). La

oxidación lipídica (SRAT) aumentó en los pacientes pre-TARGA con un nivel normal de albúmina y en los pacientes TARGA con un nivel inferior de albúmina. El proceso de oxidación proteica no se vio afectado por el estado de la albúmina (Tabla 8).

Tabla 8: comparación de los niveles de marcadores de estrés oxidativo entre pacientes infectados por el VIH con y sin hipoalbuminemia.

Subclase de albúmina (mol/l)	pre-TARGA (n = 65)		TARGA (n = 85)	
	<0.507	≥ 0.507	<0.507	≥ 0.507
n	35 (53.9%)	30 (25.9%)	63 (74.9%)	22 (25.9%)
IMC (kg/m ²)	23.87 ± 0.65	27.83 ± 1.15**	25.11 ± 0.96	25.54 ± 1.47
Albúmina (mol/l)	0.35 ± 0.094	0.57 ± 0.05***	0.33 ± 0.017	0.55 ± 0.018***
CD4 (linfocitos/mm ³)	345.71 ± 59.58	582.25 ± 102.49**	258 ± 42.04	269.38 ± 45.38
Sulfhidrilos (nmol/mg de proteína)	4.73 ± 1.49	5.07 ± 2.7	3.52 ± 1.59	4.24 ± 2.71
SRAT (μmol/l)	3.95 ± 0.56	4.72 ± 0.64**	6.79 ± 1.21	6.11 ± 1.75*
Carbonilos (nmol/mg de proteína)	0.95 ± 0.17	0.81 ± 0.16	0.82 ± 0.16	0.85 ± 0.18

Se observan diferencias significativas (* p < 0.05; ** p < 0.001; *** p < 0.0001) al comparar con la subclase de albúmina <0.507 mol/l.

Los análisis de regresión lineal múltiple confirmaron que el IMC, el sexo, la edad, el recuento de linfocitos CD4 y la carga viral no tuvieron un impacto significativo sobre las concentraciones de SRAT y carbonilos pero que el recuento de linfocitos CD4 y la

carga viral influenciaron significativamente la capacidad antioxidante (albúmina y grupos sulfhidrido) en los pacientes TARGA (Tabla 9).

Tabla 9: análisis de regresión lineal múltiple que muestran la influencia del IMC, la edad, el sexo, el recuento de linfocitos CD4 y la carga viral sobre marcadores de estrés oxidativo en pacientes TARGA.

Parámetros	Factores contribuyentes independientes				
	IMC	Edad	Sexo	CD4	Carga viral
Carbonilos (nmol/mg de proteína)	0.093	0.140	0.026	-0.139	0.176
Sulfhidrilos (nmol/mg de proteína)	0.104	-0.030	0.015	0.420**	-0.407**
SRAT (μmol/l)	0.170	0.060	0.185	-0.190	0.102
Vitamina C (μmol/l)	-0.067	-0.010	0.010	-0.091	-0.084
Albúmina (mol/l)	0.345*	-0.011	0.030	0.320*	-0.366*

* p < 0.05, ** p < 0.01.

Discusión

Este estudio fue diseñado para investigar el efecto de las terapias antirretrovirales sobre marcadores de estrés oxidativo en pacientes de Camerún infectados

por el VIH. La selección voluntaria para determinar la infección por el VIH no es común en Camerún y, por lo general, la gente recibe el diagnóstico cuando consulta por enfermedades y síntomas relacionados

con la infección por el VIH. Cuando se diagnostica que un paciente es VIH-seropositivo y tiene un recuento de linfocitos CD4 inferior a los 200/mm³, se inicia una terapia. Como consecuencia, los pacientes reciben la terapia antiviral una vez que la infección por el VIH está bastante avanzada. Independientemente del momento en que se inicie, la terapia varía en función de los objetivos terapéuticos, el costo y su disponibilidad en el mercado. Nuestros resultados demostraron que la infección por el VIH aumenta el proceso de estrés oxidativo, el cual se intensifica mediante el uso de la TAR. Esto se observó a través de las concentraciones significativamente superiores de STAR (peroxidación lipídica) (Tabla 4), lo cual sugiere un aumento en la peroxidación lipídica [10]. Entre los tres regímenes terapéuticos utilizados, los pacientes que recibieron la Terapia I –que es la asociación de una terapia de combinación en dosis fijas, comúnmente utilizada [11] en forma de monoterapia, con una combinación de medicamentos genéricos en dosis fijas de lamivudina y zidovudina– mostraron una concentración plasmática inferior de antioxidante (vitamina C) y superior de SRAT. Por lo tanto, es posible que el efecto observado pueda ser una consecuencia de esta asociación. En otros estudios se informó que los medicamentos de las TARGA pueden aumentar los niveles de estrés oxidativo más allá de los niveles provocados por el propio virus. En la infección por el VIH, las especies reactivas del oxígeno pueden intensificar la replicación del virus activando los factores de transcripción nuclear, lo cual finalmente conduce a la expresión del gen viral. Además, en los adultos infectados por el VIH, se demostró que la zidovudina promueve el daño oxidativo al ADN, proceso que se revirtió mediante la suplementación con vitaminas C y E [12]. En varios estudios realizados en pacientes pre-TARGA se halló que tanto los individuos infectados por el VIH asintomáticos como los pacientes con sida tenían niveles de estrés oxidativo superiores, tal como lo indica el aumento de metabolitos plasmáticos de la peroxidación lipídica o la reducción en los niveles de antioxidantes, en comparación con controles sanos [13, 14]. Las TARGA pueden inducir a) un aumento de la generación oxidativa, b) una disminución de la protección antioxidante o c) una falta de reparación de un daño oxidativo. El daño celular mediado por el estrés oxidativo se produce, en parte, a través de las especies reactivas del oxígeno (ERO). Las ERO incluyen moléculas tales como el peróxido de hidrógeno, iones tales como el ión hipoclorito, radicales tales como el radical hidroxilo, y el anión superóxido que es tanto un ion como un radical. Los radicales (también denominados “radicales libres”) son un conjunto de átomos que contienen un electrón no apareado en su órbita de electrones más externa. Se trata de una configuración sumamente inestable y los radicales reaccionan rápidamente con otras moléculas o radicales para lograr una configuración estable. Una vez formadas, las ERO participan de una serie de reacciones produciendo más radicales libres tales como el peróxido de hidrógeno, el peroxinitrito o el ácido hipocloroso [15]. Los radicales libres en la

infección por el VIH podrían originarse también en la oxidación proteica no enzimática y en la degradación oxidativa posterior de las proteínas glicadas.

En el caso de la Terapia I hemos notado que el aumento en el estrés oxidativo causado por la infección por el VIH como así también por el uso de la terapia tuvo lugar paralelamente a disminuciones significativas del nivel de glutatión (GSH) (grupo sulfhidrilo), albúmina y vitamina C. Los niveles anormalmente altos de radicales libres, al igual que el deterioro simultáneo de los mecanismos de defensa antioxidantes pueden conducir al daño de las enzimas y organelas celulares, como así también al aumento de la peroxidación lipídica. Bajo condiciones normales, existen numerosos sistemas antioxidantes celulares para defenderse contra el estrés oxidativo y mantener el equilibrio redox de la célula. Las ERO son eliminadas de la célula mediante sistemas enzimáticos tales como las superóxido dismutasas (SOD), la catalasa y el glutatión-peroxidasa o no enzimáticos tales como el alfa-tocoferol (vitamina E), el ácido ascórbico (vitamina C), el glutatión y el ácido úrico. En los mamíferos, el glutatión-peroxidasa cumple una función importante como mecanismo de defensa contra el daño oxidativo, al catalizar la reducción de una variedad de hidroperóxidos mediante la utilización del glutatión como sustrato reductor. Además de su función como sustrato en el ciclo redox del GSH, el glutatión también actúa como depurador endógeno directo de radicales libres que participa en la desintoxicación y el metabolismo de una serie de sustancias en el hígado [16]. Las TARGA pueden reducir la síntesis del GSH, intensificar la utilización del GSH o limitar la reducción intracelular de su forma oxidada (GSSG) [16]. Como consecuencia de la deficiencia de GSH, hay una serie de funciones relacionadas que pueden resultar perjudicadas: disminuyen la capacidad reductora, la biosíntesis de proteínas, la función inmune y la capacidad de desintoxicación y se acumulan los productos de la peroxidación lipídica. La reducción de la capacidad de desintoxicación del hígado puede conducir a la acumulación de metabolitos hepatotóxicos que terminen por dañar el hígado [16, 17]. La terapia antiviral también podría intervenir en el estrés oxidativo resultante de la destrucción de tejidos y células hepáticas y la activación de neutrófilos y macrófagos. El daño principal a las células deriva de la alteración de macromoléculas –tales como los ácidos grasos poliinsaturados– que las ERO inducen en los lípidos de la membrana, las proteínas esenciales y el ADN [18]. Las proteínas también pueden sufrir daños oxidativos indirectos al interactuar con compuestos carbonilo reactivos formados por la autoxidación de carbohidratos y lípidos [19, 20]. Las diferencias en el estrés oxidativo como así también en las concentraciones plasmáticas de antioxidantes entre pacientes pre-TARGA y TARGA puede explicarse por su estado nutricional. La malnutrición, que era común en la infección por el VIH antes de la introducción de la TARGA, puede tener un grave impacto en los componentes antígeno-anticuerpo específicos del

sistema inmune y también comprometer los mecanismos de defensa del organismo [20]. Si bien la TARGA da como resultado la supresión de la replicación viral y un mejoramiento radical en el estado clínico, inmunológico [21] y nutricional, tal como lo demuestran nuestros resultados, aún pueden observarse pérdida de peso y consunción en algunos pacientes que reciben TAR. Hemos notado que el 10% de los pacientes TARGA tenían bajo peso y que la diarrea crónica y las infecciones oportunistas eran las principales responsables de estas deficiencias nutricionales, pudiendo inducir una disminución en el nivel de la capacidad antioxidante (grupo sulfhidrilo). El aumento en la peroxidación lipídica hallado en los pacientes TARGA también puede explicarse mediante el síndrome de la lipodistrofia. Estudios previos sugieren que el síndrome de la lipodistrofia en los individuos VIH-seropositivos que reciben TARGA se caracteriza por una pérdida de grasa subcutánea, una acumulación de grasa visceral, anomalías lipídicas y resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa [22]. Es posible que determinados aspectos de este síndrome estén asociados al estrés oxidativo, lo cual aumenta la demanda de ciertos antioxidantes por parte del organismo [23, 24].

Conclusiones

La infección por el VIH aumenta el proceso de estrés oxidativo mientras que la terapia antirretroviral de combinación intensifica este efecto aumentando la oxidación lipídica. La disminución de antioxidantes que acompaña la infección por el VIH sugiere un rol potencialmente importante de la suplementación nutricional y de la buena nutrición en general en el tratamiento adecuado del VIH/sida.

Referencias

1. WHO: **Scaling up antiviral therapy in resource-limited settings: treatment guidelines for a public health approach revision.** Geneva: world Health Organization 2003.
2. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G: **AGE's and carbonyl stress: potential pathogenic factors of long-term uremic complications.** *Nephrol Dial Transplant* 2000, **15** (suppl 2):S7-10.
3. Halliwell B: **Reactive oxygen species in living systems: source, Biochemistry and role in human disease.** *American Journal of Medicine* 1991, **91**:114-122.
4. Gornal AG, Bardwill CJ, David MM: **Determination of serum proteins by means of the Biuret.** *J Bio Chem* 1975, **177**:751.
5. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K: **Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction.** *Annals Biochemistry* 1979, **95**:351-358.
6. Levine RL, Garland D, Oliver CN: **The determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins.** *Methods in Enzymology* 1990, **186**:464-477.
7. Pinnell AE, Northam BE: **Quantitative in vitro determination of albumin in serum and plasma.** *Clin Chem* 1978, **24**:80.
8. Brown RK, Kelly FG: **Evidence for increased oxidative damage in patients with cystic fibrosis.** *Paediatric Research* 1994, **36**:487-493.

9. Roe JH, Kuether CA: **The determination of ascorbic acid, in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid.** *Journal of Biological Chemistry* 1943, **147**:399-407.
10. Thomas JA, Poland B, Honzatzko R: **Protein sulfhydryls and their role in the antioxidant function of protein S-thiolation.** *Arch Biochem Biophys* 1995, **319**:1-9.
11. Laurent C, Kouanfack C, Koulla-Shiro S, Nkoue N, Bourgeois A, Calmy A, et al.: **Effectiveness and safety of a generic fixed-dose combination of nevirapine, stavudine and lamivudine in VIH-infected adults in Cameroon: open-label multicenter trial.** *Lancet* 2004, **364**(9428):29-34.
12. Allard JP, Aghdassi E, Chau J, Tam C, Kovacs CM, Salit IE, Wallmsley SL: **Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in VIH-infected subjects.** *AIDS* 1998, **12**:1653-1659.
13. Papadopulos-Eleopulos E, Hedland-Thomas B, Causer D, et al.: **Changes in thiols and glutamate as consequences of simian immunodeficiency virus infection.** *Lancet* 1991, **11**:1013.
14. Eck HP, Gmunder H, Hartmann M, et al.: **Low concentrations of acid soluble thiol (cysteine) in the blood plasma of VIH-I-infected patients.** *Biol Chem Hoppe-Selyer* 1989, **370**:101-108.
15. Maytin M, Leopold J, Loscalzo J: **Oxidant stress in the vasculature.** *Curr Atheroscler Rep* 1999, **1**:156-164.
16. Sen SK: **Cellular thiols and redox-regulated signal transduction.** *Curr Top Cell Regul* 2000, **36**:1-30.
17. Hayes JD, McLellan LI: **Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress.** *Free Radic Res* 1999, **31**:273-300.
18. Emerit I, Serejo F, Filipe P, Aloooui Youssefi, Fernandes A, Costa A, Freitas J, Ramalho F, Baptista A, de Moura MC: **Clastogenic factors as biomarkers of oxidative stress in chronic hepatitis C.** *Digestion* 2000, **62**:1135-1138.
19. Miyata T, Sugiyama S, Saito A, Kurokawa K: **Reactive carbonyl compounds related to uremic toxicity ("carbonyl stress").** *Kidney Int* 2001, **59** (suppl 78):S25-31.
20. Beisel WR: **Nutrition and immune function.** *J Nutr* 1996, **126**:261S-261SS.
21. Wanke CA, Silva M, Knox TA, et al.: **Weight loss and wasting remain common complications in individuals infected with human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy.** *CID* 2000, **31**:803-805.
22. VIH Lipodystrophy Case Definition Study: **An objective case definition of lipodystrophy in VIH-infected adults: a case-control study.** *Lancet* 2003, **361**:726-735.
23. Oberley LW: **Free radicals and diabetes.** *Free Radic Biol Med* 1988, **5**:113-124.
24. Keaney JF Jr, Larson MG, Vasani RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ: **Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, **23**:434-439.

Publique con **BioMed Central** y todos los científicos podrán leer su trabajo sin costo alguno.

"BioMed Central será el desarrollo más significativo de nuestras vidas para diseminar los resultados de la investigación biomédica."

Sir Paul Nurse, Investigador del cáncer, Reino Unido.

Sus trabajos de investigación:

- estarán disponibles sin costo alguno para toda la comunidad biomédica
- serán revisados por sus pares y publicados inmediatamente después de ser aceptados
- serán citados en PubMed y archivados en PubMed Central
- serán suyos: usted conserva el derecho de autor

Presente su manuscrito aquí:
http://www.biomedcentral.com/info/publishing_adv.asp

