



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS MEDICAS ODONTOLOGICAS Y DE LA SALUD

ENVEJECIMIENTO DEL SISTEMA INMUNE EN NIÑOS CON VIH

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA
RODOLFO NORBERTO JIMÉNEZ JUÁREZ

TUTOR
DR. GUSTAVO REYES TERÁN
HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GÓMEZ
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS "ISMAEL COSÍO
VILLEGAS"
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO DE 2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica, LA VOLUNTAD.”

Albert Einstein

GRACIAS A TODOS LOS QUE ALIMENTARON ESA FUERZA DE VOLUNTAD PARA LLEGAR AL FINAL DEL CAMINO, A MIS HIJOS RODRIGO, EMILIO, DIEGO Y POR SUPUESTO A MI COMPAÑERA DE CAMINO ROCÍO.

GRACIAS A LOS QUE ME ENSEÑARON A NO CEJAR EN EL ESFUERZO Y CUIDARON QUE ME ENCAMINARA EN ESTE SENTIDO, A MIS PADRES Y MI TÍA.

GRACIAS A TODOS LOS NIÑOS Y SUS PADRES, QUÉ ME PERMITIERON LLEVAR A CABO ESTE ESTUDIO.

GRACIAS A GUSTAVO, PERLA Y TODO EL EXTRAORDINARIO EQUIPO DEL CIENI, POR COMPARTIR SU CONOCIMIENTO Y EXPERIENCIA, ASÍ COMO POR SU ASESORÍA.

OJALA QUE LOS ESTUDIOS EN NIÑOS CON VIH ACABEN EN BREVE, AL ACABAR CON LA TRANSMISIÓN PERINATAL

Índice

RESUMEN	5
MARCO TEÓRICO	7
Maduración y envejecimiento normal del sistema inmunológico	7
Contribución del Virus de la inmunodeficiencia Humana	9
Envejecimiento del sistema inmunológico por la infección del Virus de la Inmunodeficiencia Humana.....	9
Importancia del envejecimiento del sistema inmunológico en personas que viven con VIH.....	12
JUSTIFICACIÓN.....	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	14
HIPÓTESIS.....	14
MATERIAL Y MÉTODOS	14
Población accesible.....	14
Diseño.....	14
Criterios de selección	14
Criterios de inclusión	14
Criterios de Exclusión	15
Variables	15
Variable dependiente	15
Variables independientes	15
Operacionalización de variables	15
Muestra.....	17
Muestreo	18
Plan de análisis estadístico.....	18
Descripción general del estudio.	18
Reclutamiento.	18
Toma de muestras.....	18
Procesamiento de las muestras.....	18
Mediciones de laboratorio y gabinete.....	19
Preparación de las muestras para estudios de fenotipo de linfocitos.....	19
Citometría de flujo.....	19
CONSIDERACIONES ÉTICAS	20

RESULTADOS	21
Células T CD4+	22
Resultados por subpoblación de linfocito TCD4+ estudiada	22
Análisis de otras variables explicativas	24
Células T CD8+	41
Resultados por subpoblación de linfocito TCD8+ estudiada	41
Análisis de otras variables explicativas	44
DISCUSION	57
Conclusiones	61
Referencias	62

RESUMEN

Antecedentes. Los niños con infección perinatal por el VIH, tienen mayor posibilidad de daño al sistema inmunológico, dado que aún se encuentra en desarrollo. Dentro de las alteraciones que se presentan, se ha comenzado a describir el envejecimiento replicativo prematuro (inmunosenescencia) al compararse a los niños sin infección por VIH, tomando como marcador de las células T al fenotipo CD28- CD57+. Dentro del grupo de niños con VIH, un trabajo previo encontró mayor porcentaje de células TCD8+ vírgenes envejecidas en el subgrupo de niños con VIH viremicos comparado con niños con carga viral indetectable. Mientras que dentro de las subpoblaciones de células TCD4 no se encontró asociación con la viremia.

Objetivo. Describir y comparar entre los grupos con y sin viremia detectable, el porcentaje de las diferentes subpoblaciones de células T CD4+ y T CD8+, que expresan fenotipo de inmunosenescencia.

Métodos. Estudio transversal comparativo. Se incluyeron a niños con diagnóstico confirmado de VIH perinatal de 2 a 18 años de edad, con peso de al menos 10 Kg. A todos los sujetos se les tomo una muestra sanguínea para determinar la carga viral, subpoblaciones de linfocito T, el fenotipo de inmunosenescencia, activación inmunológica y marcadores solubles de inflamación. La medición de las subpoblaciones de células T, fenotipo de inmunosenescencia y la activación inmunológica fue realizado por citometría de flujo de 14 colores, las mediciones se realizaron en células frescas (menos de 24 horas de tomada la muestra). La medición de los factores solubles de inflamación fue realizada por ELISA. Los niños fueron divididos en 2 grupos, a) Aviremicos b) Viremicos. Se comparó la distribución del porcentaje de cada subpoblación de células TCD4+ y TCD8+ por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, con esta prueba también se evaluó la distribución del porcentaje de cada subpoblación de células TCD4+ y TCD8+ con fenotipo de inmunosenescencia. Se evaluó la correlación entre el porcentaje de cada subpoblación de células TCD4+ y TCD8+ con fenotipo de inmunosenescencia con los marcadores de activación inmunológica de la subpoblación estudiada y los factores solubles de inflamación.

Resultado. Se incluyeron a 20 sujetos, 11 en el grupo aviremico y 9 en el viremico, la edad fue de 10.83 ± 4.11 y 5.32 ± 1.99 años respectivamente, todos los sujetos aviremicos estaban en tratamiento antirretroviral y solo el 55% del grupo viremico. La edad no correlaciona con el porcentaje de células TCD4+ o TCD8+ en ninguna de sus subpoblaciones. En las subpoblaciones de células TCD4+ los sujetos viremicos tenían mayor porcentaje de células de memoria central efectoras; los sujetos viremicos tienen mayor porcentaje de células TCD4+ vírgenes senescentes y en las células TCD4+, TCD4+ Vírgenes y TCD4de memoria central tienen mayor proporción de células activadas. El Log de la carga viral correlaciona con el porcentaje de células TCD4+, TCD4+ vírgenes y TCD4+ de memoria central envejecidas, en el análisis por separado de los sujetos viremicos solo se mantiene la correlación con las células TCD4+ de memoria central. La activación inmune correlaciona con el porcentaje de células TCD4+, TCD4+ vírgenes, TCD4+ de memoria central, TCD4+ de memoria central efectora y TCD4+ TemRA, en el análisis por subgrupos, solo las células TCD4+ vírgenes mantienen la correlación en ambos grupos, mientras que en el resto de las subpoblaciones de células TCD4+ solo permanece la correlación en el grupo viremico. En las subpoblaciones de las células TCD8+, el grupo viremico tenía menor proporción de células TCD8+ vírgenes y mayor proporción de células TCD8+ de memoria central; los sujetos viremicos tienen mayor porcentaje de células TCD8+ y TCD8+ vírgenes senescentes. En todas las subpoblaciones hay un incremento de las células activadas. El

Log de la carga viral correlaciona con el porcentaje de células TCD8+, TCD8+ vírgenes y TCD8+ de memoria central envejecidas, en el análisis por separado de los sujetos viremicos solo se mantiene la correlación con las células TCD8+ de memoria central. La activación inmune correlaciona con el porcentaje de células TCD8+, TCD8+ vírgenes y TCD8+ de memoria central. En el análisis por subgrupos solo las células TCD8+ de memoria central mantiene la correlación en ambos grupos, mientras que TCD8+ y TCD8+ vírgenes solo lo tienen en el grupo viremico.

Conclusiones. Nuestros datos corroboran que la viremia impacta en el envejecimiento inmunológico, adicionalmente la activación inmunológica para contribuir también en este fenómeno y posiblemente más que la viremia. Falta por explorar otros fenómenos que favorezcan la activación inmune como son la translocación de productos bacterianos a partir del intestino y co-infecciones.

MARCO TEÓRICO

En pediatría la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), es transmitida preferentemente por la vía perinatal.(1) Actualmente se considera que a nivel mundial hay 150 mil nuevas infecciones en niños al año(2); en México hay 4122 menores de 15 años que viven con la infección, de los cuáles 3146 están catalogados con SIDA.(3)

Esta población es especialmente vulnerable por el hecho de tener un sistema inmunológico en desarrollo que tiene mayores dificultades para controlar la infección. Lamentablemente en México, habitualmente se detectan a los niños infectados cuando ya están sintomáticos, de acuerdo a los datos de CENSIDA entre 1997 y 2010 la relación de niños diagnosticados con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)/seropositivos fue entre 8:1 y 2:1, en 2011 comenzó a revertirse esta tendencia y en 2012 la relación quedó en 0.67,(3) por lo que el virus ha tenido la oportunidad de ocasionar grandes daños en el sistema inmune. El seguimiento de niños con VIH presenta un desafío clínico a largo plazo, considerando que el virus ha tenido la oportunidad de destruir un sistema inmune en formación y el impacto de esta destrucción en el desarrollo a largo plazo del sistema inmune se desconoce

Maduración y envejecimiento normal del sistema inmunológico

El sistema inmunológico en el ser humano es de los más complejos de la evolución, ya que ha tenido que especializarse para defender al organismo de una gran cantidad de microorganismos. Además, juega papeles regulatorios en la homeostasis y tiene que estar auto-regulado. Cualquier desregulación puede ocasionar que se presenten enfermedades alérgicas, autoinmunes o se tenga un mayor riesgo de infecciones inclusive por patógenos oportunistas.

El timo juega un papel central en el desarrollo de la inmunidad adquirida. El timo está organizado en lóbulos y cada lóbulo está dividido en corteza y medula, en donde conviven las células epiteliales, células derivadas de medula ósea y macrófagos. Las tres líneas celulares son importantes para la diferenciación de los linfocitos, en primera instancia tienen que madurar hasta tener los receptores de membrana que caracteriza a las células T y además se lleva a cabo los re-arreglos genéticos para generar la diversidad del receptor de células T. Posteriormente van a madurar hasta diferenciarse en células cooperadoras (CD4+) o citotóxicas (CD8+), en este momento, van a tener un repertorio de moléculas en

la superficie que los van a identificar antes de ser expuestas a diferentes antígenos, denominándolas en este momento células “vírgenes” (naive en inglés).(4)

Una vez que salen a sangre periférica, estas células son retadas a diferentes antígenos, y comienzan a especializarse aún más, formando clonas a diferentes antígenos, estas clonas son conocidas como células de memoria, teniendo una expresión en su superficie característica de moléculas. En este estadio de diferenciación nosotros podemos ver en forma indirecta la replicación que tiene esta clona por la pérdida de ciertas moléculas, como CD28 que ocasiona que haya un desregulación de la respuesta inmunológica y que funcionalmente disminuya su capacidad de respuesta, por lo que se considera como un marcador de un estadio de diferenciación intermedio en las células de memoria, si persiste el antígeno, las clonas de memoria son obligadas a continuar diferenciándose ocasionando que aparezcan en su superficie moléculas asociadas a una gran replica como es la molécula CD57. Por esto es que se considera al fenotipo CD28⁻ CD57⁺ como marcador de senescencia y está bien documentado en los mayores de 70 años.(4)

Cuadro 1: Fenotipos de diferentes estadios de maduración de células T(5)

Fenotipo	Estadio de desarrollo de células T
CD28⁺CD57⁻CD8⁺	Estadio temprano de célula T CD8 ⁺
CD28⁻CD57⁻CD8⁺	Estadio intermedio de Célula T CD8 ⁺
CD28⁻CD57⁺CD8⁺	Estadio tardío de célula T CD8 ⁺
CD45RA⁺CD27⁺CD28⁺	Célula T virgen CD4 ⁺ o CD8 ⁺
CD45RA⁻CD27⁺CD28⁺	Estadio temprano de célula T de memoria CD4 ⁺ o CD8 ⁺
CD45RA⁻CD27⁻CD28⁺CD4⁺	Estadio intermedio de célula T CD4 de memoria
CD45RA⁻CD27⁻CD28⁺CD8⁺	Estadio intermedio de célula T CD8 de memoria
CD45RA⁻CD27⁻CD28⁻CD4⁺	Estadio tardío-RA ⁻ de célula T CD4 ⁺ o CD8 ⁺ de memoria
CD45RA⁺CD27⁻CD28⁻CD8⁺	Estadio tardío-RA ⁺ de célula T CD4 ⁺ o CD8 ⁺ de memoria

Tomado de referencia 5.

Los eventos que se presentan con el envejecimiento en particular son:

- a) inversión de la relación T CD4/CD8 y
- b) alteración en las proporciones de células T en estadios tempranos, intermedios y tardíos o células envejecidas.(5)

Contribución del Virus de la inmunodeficiencia Humana

El VIH es un virus RNA, que se clasifica como lentivirus y es capaz de unirse al DNA humano. Se conoce bien que el VIH ocasiona destrucción a partir de su ciclo lítico y de la toxicidad de varias de sus proteínas, es particularmente susceptible la población de células T, ganglios linfáticos y timo, así como otras células que expresan el receptor celular CD4. El VIH ocasiona daño en múltiples órganos y tejidos sin embargo en este trabajo nos enfocaremos al timo.

La infección de células precursoras T y timocitos pueden afectar la producción y liberación de timocitos frescos, particularmente células vírgenes que entonces residen en otras partes del cuerpo(4). Estas células son vitales para la respuesta a antígenos. Estudios que usan el modelo de ratón SCID/hu Thy/Liv apoyan que el VIH reduce las células progenitoras hematopoyéticas, así como los timocitos.(6) Los efectos tóxicos parecen ser producidos por factores celulares y no por el virus mismo.

El timo es el encargado de donar células vírgenes T funcionales a la circulación aun en la edad adulta y fundamental durante los primeros años de la vida. Al haber daño en el timo la capacidad que el individuo va a tener para aumentar las células T en sangre periféricas van a ser muy inferiores, que en condiciones normales.(4) Estos eventos podrían verse aumentados en los niños, donde el timo es aún más activo en condiciones normales.

Envejecimiento del sistema inmunológico por la infección del Virus de la Inmunodeficiencia Humana

El tratamiento anti-retroviral detiene el avance de la infección por VIH y previene la sintomatología del SIDA, aumentando la esperanza de vida de las personas infectadas. Sin embargo, a pesar de tener niveles indetectables de virus, las personas VIH+ bajo tratamiento a largo plazo tienen una esperanza de vida menor que las personas no infectadas(7–9) debido principalmente a un mayor riesgo de desarrollar enfermedades asociadas con el envejecimiento (ej. enfermedades cardiovasculares, osteoporosis y cáncer). Aunque una parte de estas complicaciones pudiera estar ligada al tratamiento, la evidencia acumulada sugiere que la infección con VIH *per se*, juega un papel importante. En particular, se ha observado que las personas infectadas por el VIH presentan cambios en el sistema inmune que se asemejan a los encontrados en personas mayores no

infectadas, y que se han asociado al envejecimiento.(10–12) El termino general para referirse a este fenotipo es “inmunosenescencia”.

Los cambios asociados a la inmunosenescencia observados en el sistema inmune tanto de personas mayores como de personas con VIH, se han medido principalmente en linfocitos T e incluyen, entre otros: disfunción tímica, activación de células T, disminución del cociente de linfocitos T CD4/CD8 y del cociente de células vírgenes/células de memoria, disminución del repertorio de linfocitos T, reducción en la capacidad de respuesta a antígenos vacunales y de proliferación y una expansión de la subpoblación de linfocitos efectores CD28-, que expresan el marcador de senescencia CD57 y presentan telómeros más cortos.(11)

En términos generales, estos cambios indican que los linfocitos T del sistema inmune de las personas mayores han ido “envejeciendo” debido probablemente a los encuentros repetidos con patógenos a lo largo de toda una vida. En el cuadro de una infección crónica como lo es la infección por VIH, el sistema inmune se encuentra constantemente confrontado a los antígenos virales (incluso en pacientes bajo tratamiento anti-retroviral con carga viral indetectable, el virus continúa replicándose a bajo nivel) y esto podría estar acelerando el proceso de inmunosenescencia observado en las personas infectadas. Es de notar que la infección por citomegalovirus (CMV), responsable de otra infección viral crónica, se ha asociado con marcadores de inmunosenescencia.(13–15)

En niños infectados con VIH perinatalmente, el sistema inmune terminara de desarrollarse en presencia del virus –incluso en presencia de una alta tasa de replicación viral si la infección no es detectada y tratada de forma temprana. A pesar del impacto que la infección por VIH parece estar teniendo en el envejecimiento prematuro del sistema inmune, hasta agosto 2012 no había estudios que evaluaban marcadores de inmunosenescencia en niños infectados. Es posible que este impacto sea aún más dramático en un sistema inmune en desarrollo que en el sistema inmune maduro de los adultos infectados.

Un estudio reciente demuestra que una cohorte de adultos jóvenes no infectados por VIH, timectomizados poco tiempo después de nacer debido a una malformación cardiaca congénita, presentaba marcadores de inmunosenescencia que se asemejaban más a los de adultos mayores que a los jóvenes de la misma edad del grupo control no timectomizados.(16) Esto señala la importancia del timo durante la infancia en el desarrollo

correcto de los linfocitos T y sugiere que el efecto de la infección por VIH en la disfunción tímica podría tener un mayor impacto en niños infectados perinatalmente que en adultos.

Con respecto al envejecimiento en niños con VIH hay 3 estudios hasta el momento actual. Mansoor y colaboradores estudiaron en Sudáfrica a tres grupos de niños: a) nacidos de madre sin VIH y VIH negativos, b) nacidos de madre con VIH y niños VIH negativos y c) nacidos de madre con VIH e infectados por VIH en forma perinatal. (17) El objetivo del estudio fue comparar el fenotipo de células T vírgenes y de memoria en estos tres grupos de niños durante el primer año de vida. Los resultados obtenidos demostraron una disminución del número de células TCD8+ vírgenes en los niños con infección por VIH, incremento del número de células TCD8+ de memoria y un mayor número de células TCD8+ expresaron inmunofenotipo de envejecimiento; interesantemente estas diferencias se observaron entre el grupo con VIH y expuesto a VIH pero no cuando se comparó con el grupo sin VIH, este fenómeno no concuerda con la teoría del envejecimiento inmunológico en donde se requiere de una activación inmune persistente para que las células se repliquen y expresen este fenotipo, incluso los autores mencionan que este fenotipo en niños sanos no es lo que esperaban y por lo tanto se requiere de más estudios en este campo.(17)

Sharp(18) y colaboradores realizaron un estudio en niños con VIH en donde el objetivo era evaluar la diferenciación de las células TCD4+ en la progresión de la enfermedad, definiendo progresión de la enfermedad como inmunosupresión si las células T CD4+ son <15% o sin inmunosupresión si las células T CD4+ son >25%, aunque no era su objetivo principal, describieron un aumento en la proporción de células TCD4+ que expresaban la molécula CD57 en el grupo con inmunosupresión grave y que esta expresión se correlacionaba negativamente con la cuenta total de células T CD4+ y positivamente con la carga viral.

Díaz(19) en España publica el primer artículo, en donde el objetivo primario es la inmunosenescencia en niños con VIH y con la hipótesis que la carga viral elevada es importante para que se presente este inmunofenotipo. Se estudiaron 57 niños con VIH+ y 32 niños sin VIH, únicamente se estudiaron las subpoblaciones de células TCD8. Dividieron a los niños de acuerdo a su carga viral en viremicos y aviremicos, encontraron un mayor fenotipo de inmunosenescencia en el grupo virémico, cuando se comparó entre el grupo aviremico y niños sanos no se encontraron diferencias significativas, este fenómeno se

repitió en todas las subpoblaciones estudiadas (Virgenes, de memoria, efector de memoria).(19)

Como se puede observar en esta última parte del marco teórico no está suficientemente estudiado envejecimiento prematuro del sistema inmunológico en niños con VIH aunque como es lógico ya hay algunos estudios que demuestran que se presenta este fenómeno. Nuestra teoría es que entre mayor replicación viral haya o por periodos más prolongados (comenzando por la edad del diagnóstico) habrá mayor activación inmunológica, mayor replicación celular y mayor fenotipo de inmunosenescencia.

Importancia del envejecimiento del sistema inmunológico en personas que viven con VIH

Hay poca evidencia sobre la importancia clínica del envejecimiento inmunológico en adultos con VIH, aunque teóricamente puede impactar en una mala restauración inmunológica posterior al inicio de tratamiento antirretroviral, podría favorecer cáncer, aterosclerosis o una inmunodepresión cualitativa como la que se observa en el anciano.

Cao(5) realizó un estudio de casos y controles, anidados en una cohorte de adultos con VIH, los dividió en dos grupos: casos a los progresores rápidos (desarrollo de SIDA en menos de 4 años) y controles a los progresores lentos (desarrollaron SIDA en más de 8 años); estudiaron células crio-preservedas en la visita índice (1 año de que presentaran SIDA los progresores rápidos, en el mismo periodo se tomaron las células de los controles). Encontraron un 35% de células TCD8 que expresaban fenotipo de inmunosenescencia en el grupo de casos, mientras que hubo 20% en los adultos no infectados. Unemori(20) en un estudio de casos y controles de adultos con VIH y sarcoma de Kaposi encontró un aumento de los marcadores de inmunosenescencia en los casos, aun cuando la cuenta de células T CD4+ eran similares y la carga viral estaba indetectable.

JUSTIFICACIÓN.

Los niños infectados perinatalmente por VIH, están expuestos desde in útero al VIH. En nuestra población la mayor parte de los niños infectados, la madre desconocía la infección por lo que no recibe tratamiento ni tampoco se da profilaxis al recién nacido. Posteriormente el diagnóstico se hace en forma tardía cuando el niño ya está sintomático.

Al día de hoy se sabe que la infección por VIH ocasiona una disfunción del sistema inmune, haciendo al hospedero más susceptible de tener infecciones oportunistas. En este momento, la infección por VIH se está convirtiendo en una enfermedad crónica, debido a que los antirretrovirales han mejorado la esperanza de vida, aún hay poco conocimiento sobre el envejecimiento del sistema inmune, lo cual es esperado que tengan nuestros pacientes con VIH de adquisición perinatal. El aumento del conocimiento sobre el envejecimiento prematuro podría iniciar la búsqueda de evaluaciones alternas en los regímenes de tratamiento antirretroviral o bien la adición de inmunomodulación. Adicionalmente en VIH perinatal es de las pocas ocasiones que nosotros tenemos la oportunidad de evaluar el efecto de la enfermedad sabiendo su tiempo de duración casi exacto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Ya se ha documentado en adultos con infección por VIH que existe un fenotipo de inmunosenescencia, así como en adultos jóvenes timectomizados, mientras que comienza su estudio en niños con VIH. Teóricamente esto se sustenta en la activación inmune que ocasiona la infección crónica por VIH. En los niños con VIH en México en donde se hace un diagnóstico tardío, la viremia persistente en los primeros años habrá ocasionado que haya una diferenciación acelerada de las células T CD8 y CD4, este envejecimiento del sistema inmunológico parece estar relacionado con eventos no relacionados a SIDA, similares a los que se presentan en la población anciana. El entendimiento de las variables que potencialmente influyen en el envejecimiento inmunológico son básicas para proponer estrategias de monitorización en adolescentes y/o jóvenes que tienen infección perinatal del VIH, así como de metas virológicas e inmunológicas en el tratamiento de los niños con infección perinatal por VIH.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Los niños con VIH, que están virémicos ¿tienen un mayor porcentaje de células T CD8 y T CD4 que expresan fenotipo de inmunosenescencia, comparados con niños con VIH avirémicos al momento de la inclusión al estudio?

OBJETIVOS

1. Describir y comparar entre los grupos con y sin viremia detectable, el porcentaje de las diferentes subpoblaciones de células TCD4+ y TCD8+, que expresan fenotipo de inmunosenescencia
2. Analizar las variables que potencialmente impactan en el porcentaje de células TCD8+ y TCD4+ que expresan el fenotipo inmunosenescencia
3. Describir y comparar las subpoblaciones de células T CD4+ y T CD8+ en ambos grupos

HIPÓTESIS

1. Los niños con VIH que están virémicos tienen un mayor número de células T CD8 y T CD4 que expresan fenotipo de inmunosenescencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población accesible

La población estudiada fueron niños con diagnóstico de Infección perinatal por VIH, que se atienden en el CAPASIT Oaxaca.

Diseño

Estudio transversal comparativo

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Edad de 2 a 16 años
- Diagnóstico de infección perinatal por VIH
- Peso igual o mayor a 10 Kg

Criterios de Exclusión

- Patologías concomitantes (cáncer, diabetes mellitus, asma, cardiopatía congénita, enfermedades autoinmunes)

Variables

Variable dependiente

Fenotipo de inmunosenescencia (fenotipo CD57+ CD28-)

Variables independientes

Logaritmo de la carga viral

Viremia al momento del ingreso al estudio

Edad

Edad al momento del diagnóstico

Grupo de edad (2 a 6 años; 7 a 18 años)

Recibir tratamiento anti-retroviral altamente activo (TARAA)

Nadir de CD4

Marcadores de activación inmune (HLA-DR, CD38)

Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de Medición
Variable dependiente				
Fenotipo de inmunosenescencia	Expresión de moléculas asociadas al envejecimiento en células T CD4 y CD8	Células T CD8 y CD4 que expresan la molécula CD57 y no expresan la molécula CD28	Cuantitativa discreta	Porcentaje de la subpoblación celular que expresa el fenotipo de inmunosenescencia
Variables independientes				
Logaritmo de la Carga viral	Logaritmo de la carga detectada en plasma	Conversión al logaritmo natural del número de copias del RNA del VIH, detectadas por ml de plasma, <50 copias/ml se considera indetectable	Cuantitativa continua	Log natural de la carga vial detectada en plasma

Sujetos virémicos	Presencia de RNA del VIH en plasma	Asignación al grupo de sujetos con viremia, si el RNA en plasma del sujeto esta detectable	Dicotómica	0= Aviremico 1= Viremico
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la inclusión al estudio	Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta la inclusión al estudio	Cuantitativa continua	Años
Edad al diagnóstico	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta que se diagnosticó la infección por VIH	Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta el diagnóstico de la infección por VIH	Cuantitativa continua	Años
Grupo de edad	Intervalo de edad previamente definido	Para fines de este estudio, se dividió en menores y mayores de 7 años	Dicotómica	1= 2 a 6 años 2= 7 a 18 años
Tratamiento anti-retroviral altamente activo	Combinación de fármacos con al menos dos mecanismos de acción para inhibir la replicación del VIH	Sujetos que están recibiendo una combinación de 3 fármacos para inhibir la replicación del VIH, de acuerdo a las guías de tratamiento de la infección por VIH en niños	Dicotómica	0= Sin tratamiento 1= Con tratamiento
Nadir de CD4	Punto más bajo de CD4 en la vida de un paciente	Punto más bajo de CD4 registrados en el expediente clínico	Cuantitativa discreta	Número absoluto de CD4 más bajos registrados en el expediente clínico
Marcadores de activación inmune	Detección de moléculas HLA-DR y CD38 en subpoblaciones de células T CD4 y T CD8	Porcentaje de subpoblaciones de células T CD4 y T CD8 que expresan cualquiera de las dos moléculas (HLA-DR y CD38)	Cuantitativa discreta	De razón

Muestra

La estimación del tamaño de muestra se realizó con los siguientes supuestos,(19) utilizando el software Open Epi para comparación de medias, con la siguiente fórmula

$$n_1 = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2 / \kappa)(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2}{\Delta^2}$$

$$n_2 = \frac{(\kappa * \sigma_1^2 + \sigma_2^2)(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2}{\Delta^2}$$

Asumimos que el porcentaje de células con el fenotipo de inmunosenescencia se comporta como una variable aleatoria continua:

Células TCD8 vírgenes

- Alfa: 0.05
- Beta: 80%
- Media Grupo 1: 0.2 Desviación estándar: 0.2
- Media Grupo 2: 0.8 Desviación estándar: 0.6
- Relación 1:1

Grupo aviremico= 9

Grupo viremico= 9

No se realizó una estimación del tamaño de muestra para otras subpoblaciones celulares dado que solo se ha reportado la diferencia en las células TCD8 vírgenes.

Muestreo

Secuencial, por conveniencia. Previa firma de consentimiento informado del padre o tutor.

Plan de análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva (medidas de tendencia central y dispersión). Se realizó una comparación entre los siguientes grupos.

- a) Viremicos (carga viral detectable al momento del ingreso al protocolo)
- b) Aviremicos (Carga viral indetectable al momento del ingreso al protocolo)

Para comparar las variables nominales se usó la Ji cuadrada o prueba exacta de Fisher. Para comparar las variables cuantitativas se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, para comparar la distribución entre variables, consideramos que esta prueba es más robusta en una población pequeña, comparada con la U de Mann-Whitney que solo compara las medianas. Se buscó correlación entre las células con fenotipo de inmunosenescencia, logaritmo de la carga viral y porcentaje de células con activación inmune. Se consideró una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Descripción general del estudio.

Reclutamiento.

El reclutamiento se realizó por el investigador principal del CAPASITS Oaxaca, durante su visita de seguimiento habitual al laboratorio. En esta visita se invitó a participar en el estudio, se resolvieron todas las dudas que expresaron los sujetos o sus tutores y se firmaron las cartas de consentimiento y/o asentimiento informado.

Toma de muestras.

La toma de muestras se realizó durante la primera visita, posterior a la firma del consentimiento informado. Se utilizó el sistema Vacutainer® y tubos con EDTA, uno de 5 ml para carga viral y otros dos de 5 ml cada uno para medir las subpoblaciones de linfocitos. En total se tomaron 15 ml de sangre lo que para un niño de 10 kg corresponde al 1.8% del volumen circulante. La toma de muestras estuvo a cargo del personal del servicio de laboratorio de CAPASITS Oaxaca.

Procesamiento de las muestras.

La carga viral se realizó en el laboratorio de diagnóstico virológico del Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas (CIENI) del Instituto Nacional de Enfermedades

Respiratorias (INER), así como un reporte para uso clínico de la subpoblación de células T, T CD4 y T CD8. Los ensayos para determinar fenotipo de inmunosenescencia y la activación inmune se realizarán en el laboratorio de investigación del CIENI, el cual tiene un nivel de bioseguridad BSL-2. Las muestras se trabajaron en células frescas. Todos los estudios se realizaron en el CIENI del INER.

Mediciones de laboratorio y gabinete.

Carga viral. Los niveles de RNA-VIH fueron medidos utilizando la prueba COBAS Taqman HIV-1 test (Roche, Branchburg, New Jersey, USA). El nivel más bajo de detección fue 50 VIH-RNA copias/ml.

Marcadores solubles de inflamación. La cuantificación de PCR, IL-6, fibrinogeno y dimero D se realizaron por el método de ELISA.

Preparación de las muestras para estudios de fenotipo de linfocitos

Todas las muestras llegaron en 24 horas al laboratorio, inmediatamente las células mononucleares periféricas (PBMC) fueron aisladas por centrifugación, mediante la técnica de gradiente en placa de Ficoll (Pharmacia, Uppsala, Suecia) y posteriormente fueron teñidas para la determinación del inmunofenotipo.

Citometría de flujo.

El fenotipo fue realizado en cuanto las muestras llegaron al laboratorio. Las células fueron teñidas por 20 minutos en la obscuridad con anticuerpos mononucleares fluorescentes conjugados CD3-fluoresceína isotiocianato, CD31- ficoeritrina (PE), CD38-PE, CD57-PE, CD45RA alofococianina (APC) y el receptor de muerte celular programada (PD)-1-PECy7 (Becton-Dickinson, San Diego, California, USA), CD27-PECy7 (Beckman Coulter, Fullerton, California, USA) y CD4-VioBlue, CD8-VioGreen, Antígeno celular leucocitario -Antígeno D Relacionado (HLA-DR)-APC, CD28-APC (Miltenyi Biotec, Auburn, California, USA). Se utilizaron controles isotipicos apropiados (mouse IgG1-PE, IgG2b-APC, and IgG1kPECy7) para evaluar teñidos no específicos. Posteriormente las células fueron lavadas y resuspendidas en solución salina con fosfato como amortiguador 1% para-formaldehído. Todas las muestras fueron analizadas utilizando el citómetro FacsCalibur (Becton-Dickinson). En total se recolectaron/midieron 100,000 eventos de linfocitos utilizando parámetros morfológicos (Dispersión directa y lateral). Los datos fueron procesados con el

Software FACSDiva (Becton-Dickinson) y analizados con el software Kaluza Analyzing v.1.2 (Beckman Coulter).

CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo a la Ley General de Salud, este estudio se considera como un estudio con riesgo mínimo, debido a que implica la toma de muestra de sangre menor a 2 % del volumen circulante. Se solicitó consentimiento informado por escrito al tutor todos los sujetos de estudio, solo se solicitó asentimiento informado a los niños de 8 o más años y si ya conocían el diagnóstico de la infección por VIH.

Se respetó la privacidad y confidencialidad de los sujetos de investigación, el documento fuente se encuentra resguardado en el CIENI del INER, la base de datos electrónica se encuentra bajo el resguardo de los investigadores responsables, solo se utilizaron códigos para que los sujetos no pudieran ser identificados.

Si bien este proyecto no tiene un beneficio directo al sujeto de investigación, entender el fenómeno de envejecimiento, abre las puertas a potenciales intervenciones clínicas.

Este proyecto se encuentra registrado y se tiene la aprobación de los comités de investigación y ética del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (C32-13) y de CAPASITS Oaxaca.

RESULTADOS

Se incluyeron 20 sujetos, con diagnóstico de infección perinatal por el virus de la inmunodeficiencia humana. Reportamos las características generales de los sujetos de investigación en la tabla 1, donde puede apreciarse que los sujetos sin viremia eran de mayor edad, una mayor proporción estaba recibiendo terapia anti-retroviral, así como tenían más tiempo de estar recibiendo dicho tratamiento.

Cuadro 2. Características generales

Variable	Virémicos (n = 9)	No virémicos (n= 11)	p
Mujeres, n (%)	4 (44.44)	7 (63.63)	0.65 ^a
Edad, años (DE)	5.32 (1.99)	10.83 (4.11)	0.002
Edad al diagnóstico, años (DE)	3.01 (1.94)	2.35 (1.33)	0.37
2 a 6 años, n (%)	6 (66.66)	4 (36.36)	0.37 ^a
Tiempo desde el diagnóstico, años (DE)	2.31 (1.69)	8.48 (4.45)	0.001
Tratamiento, n (%)	5 (55.55)	11 (100)	0.026 ^a
Tiempo de tratamiento, años (DE)	3.08 (1.64)	8.22 (4.20)	0.021
Nadir de CD4, n (DE)	628 (206)	488 (340)	0.29
Log Carga viral, (DE)	2.99 (1.47)	NA	NA

a. Prueba exacta de Fisher

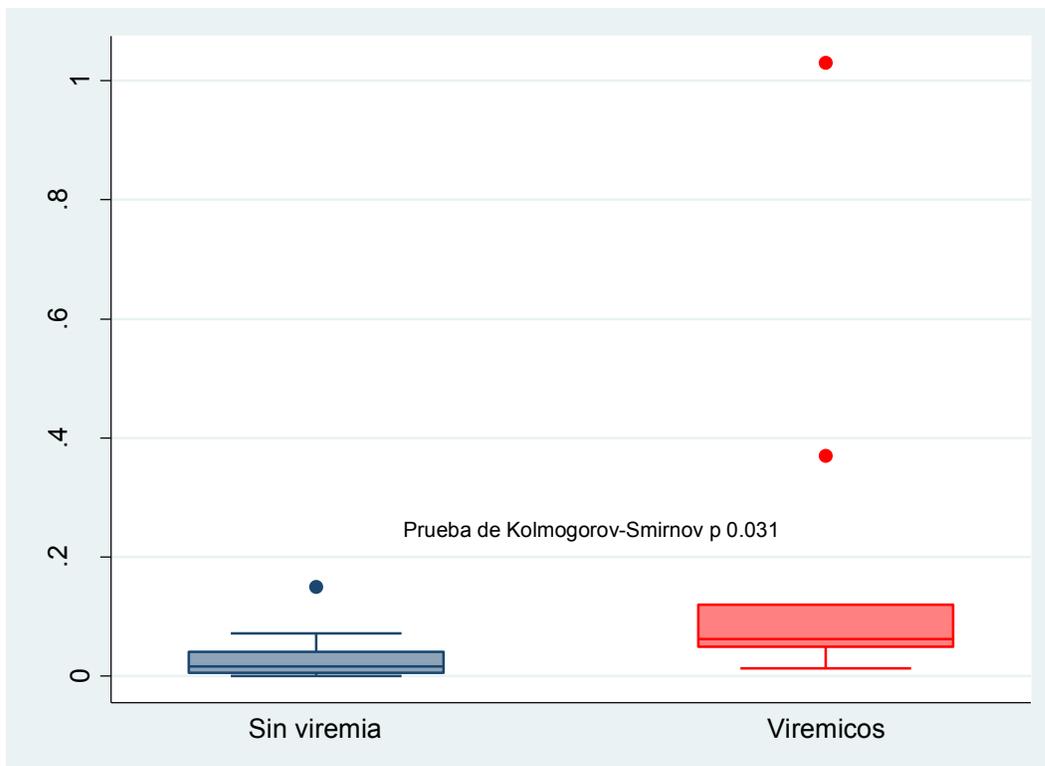
El análisis descriptivo se realizó dividiendo a los sujetos de acuerdo a la presencia o ausencia de viremia al momento de ingreso al estudio, se calcularon las medianas, los rangos intercuartil y de acuerdo a su distribución -que fue diferente a la Gaussiana- se decidió realizar la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar diferencias en la distribución entre los grupos estudiados. Este análisis se realizó para los linfocitos TCD4, TCD8 y sus subpoblaciones por separado.

Células T CD4+

Resultados por subpoblación de linfocito TCD4+ estudiada

Entre las subpoblaciones celulares de los linfocitos TCD4+, solo en los linfocitos TCD4+ efectores de memoria central hubo diferencias en la mediana de los grupos de estudio, los sujetos con viremia tuvieron una mayor proporción de TCD4+ de memoria central (19.8 RIC 15.7 - 20.9 vs 16.7 RIC 8.27 - 18.7) (Tabla 2). Al analizar las medianas de las diferentes subpoblaciones de los linfocitos TCD4+ que expresan fenotipo de inmunosenescencia solo encontramos diferencia en las células TCD4+ Vírgenes (0.16 RIC 0.006 - 0.41 vs 0.062 RIC 0.05 - 0.041) (Figura 1).

Figura 1. Los niños con VIH que están viremicos tienen una mayor proporción de células T CD4+ vírgenes envejecidas



También se observaron diferencias en la expresión de moléculas de activación inmune, particularmente HLADR en el total de las células TCD4+, TCD4+ vírgenes y TCD4 de memoria central, así como en la expresión simultánea de HLADR+ y CD38+ a excepción de las células TCD4+ de memoria central.

Cuadro 3. Distribución de las subpoblaciones de células TCD4

Variable	Todos los niños con VIH Mediana, (RIC 25-75)	Virémicos Mediana, (RIC 25-75)	Sin viremia Mediana, (RIC 25-75)	p
TCD4+, n	907.5 (643.5 -1058)	953 (695 - 1055)	862 (614 - 1061)	0.91
Subpoblación				
TCD4+ Vírgenes, %	56.65 (54 - 61)	56 (53 - 57.1)	57.8 (55.4 - 65.7)	0.44
TCD4+ de memoria central, %	20.7 (15.6 - 25.55)	20.3 (15.4 - 26.4)	21.1 (18.7 - 23)	0.81
TCD4+ de memoria efectora, %	18.5 (12.1 - 20.1)	19.8 (15.7 - 20.9)	16.7 (8.27 - 18.7)	0.041
TCD4+ TemRA, %	3.09 (1.14 - 6.69)	3.5 (1.38 - 6.35)	2.69 (1.26 - 7.03)	1
TCD4+				
Células envejecidas, %	0.39 (0.17 - 0.91)	0.41 (0.37 - 1.35)	0.26 (0.12 - 0.84)	0.56
HLADR+, %	5.68 (3.82 - 9.01)	7.88 (5.71 -10.3)	3.87 (3.35 - 5.7)	0.031
CD38+, %	86.05 (81.05 - 90)	89 (83.9 - 91.2)	85.1 (78.8 - 87.3)	0.31
Doble marcador+, %	3.91 (3.12- 7.57)	7.48 (6.17 - 7.69)	3.52 (2.48 - 3.92)	0.031
Ki67+, %	1.05 (0.53 - 2.11)	2.06 (0.53 - 2.11)	0.68 (0.39 - 1.43)	0.153
TCD4+ Vírgenes				
Células envejecidas, %	0.32 (0.12 - 0.071)	0.16 (0.006 - 0.41)	0.062 (0.05 - 0.041)	0.031
HLADR+, %	2.04 (1.02 - 2.74)	2.62 (2.28 - 3.8)	1.07 (0.7 - 1.98)	0.006
CD38+, %	98.45 (97.2 - 99)	98.9 (98.3 - 99)	98 (95.5 - 99)	0.258
Doble marcador+, %	1.56 (1.05 - 2.56)	2.26 (2.14 - 3.63)	1.05 (0.76 - 1.8)	0.009
Ki67+, %	0.28 (0.13 - 0.67)	0.48 (0.22 - 0.69)	0.18 (0.06 - 0.43)	0.211
TCD4+ de memoria central				
Células envejecidas, %	0.21 (0.06 - 0.36)	0.2 (0.1 - 0.27)	0.33 (0.06 - 0.38)	0.56
HLADR+, %	8.29 (4.41 - 13.7)	13.8 (7.76 - 17)	5.12 (3.94 -9.18)	0.041
CD38+, %	73.95 (65.55 - 84.55)	84.7 (74.2 - 84.8)	67.6 (60.7 - 74.6)	0.012
Doble marcador+, %	5.07 (2.94 - 9.57)	7.45 (4.26 - 12.4)	4.79 (2.3 - 7.97)	0.31
Ki67+, %	2.22 (0.99 - 4.075)	3.14 (1.47 - 4.22)	1.72 (0.72 -3.38)	0.65
TCD4+ de memoria efectora				
Células envejecidas, %	1.46 (0.67 - 4.66)	1.55 (1.01 - 5.7)	1.07 (0.38 - 3.61)	0.95
HLADR+, %	19 (15.95 - 27.8)	19.7 (18.6 - 25)	16.4 (11.07 - 30.6)	0.211
CD38+, %	49.6 (37.15 - 60.8)	59.4 (48.4 - 62.4)	37.9 (26.7 - 58.3)	0.06
Doble marcador+, %	10.45 (8.06 - 20.7)	15.1 (8.88 - 23.9)	9.43 (6.47 - 15.1)	0.485
Ki67+, %	2.07 (1.33 - 5.58)	3.86 (1.4 - 4.81)	1.49 (0.73 - 7.04)	0.313
TCD4+ TemRA				
Células envejecidas, %	1.85 (0.37 - 6.61)	2.96 (0.98 - 6.73)	0.64 (0.26 - 6.49)	0.485
HLADR+, %	11.85 (5.18 - 24.4)	18.6 (9.64 - 35.5)	11.2 (3.15 - 22.1)	0.171
CD38+, %	87.75 (83.1 - 94.65)	88.2 (84.4 - 95.8)	87.3 (72.8 - 92.8)	0.446
Doble marcador+, %	7.51 (3.21 - 19.3)	15.3 (5.13 - 19.7)	6.7 (2.06 - 16.4)	0.41
Ki67+, %	1.96 (0.63 - 5.98)	4.08 (0.77 - 5.17)	1.72 (0.32 - 6.79)	0.735

RIC: Rango intercuantílico

Cuadro 4. Coeficiente de correlación de Pearson entre las células TCD4+, las subpoblaciones envejecidas y las variables clínicas.

	T CD4+	TCD4+ Vírgenes	TCD4+ de memoria central	TCD4+ de memoria efectora	TCD4+ TemRA
Nadir Células CD4+	0.037	0.0766	0.1667	0.0673	0.1009
Valor de p	0.8768	0.7482	0.4824	0.7779	0.672
Log CV	0.4805	0.6063	0.5468	0.3191	0.4377
Valor de p	0.032	0.0046	0.0126	0.1703	0.0536
Log CV al diagnóstico	0.004	-0.0151	-0.0227	0.0641	0.0626
Valor de p	0.9868	0.9497	0.9242	0.7883	0.7931
Edad	-0.1681	-0.3279	-0.2931	-0.1524	-0.2374
Valor de p	0.4787	0.1581	0.2098	0.5212	0.3135
Tiempo de recibir TARA	0.0755	-0.3693	-0.0086	-0.0234	-0.1815
Valor de p	0.781	0.1592	0.9749	0.9315	0.5011
Tiempo desde el diagnóstico de VIH	-0.237	-0.3896	-0.3533	-0.175	-0.2762
Valor de p	0.3144	0.0895	0.1265	0.4606	0.2385

Análisis de otras variables explicativas

El envejecimiento de las células TCD4+ tuvo correlación con el logaritmo de la carga viral, sin embargo, cuando se evalúa la correlación solo en el subgrupo de sujetos viremicos se pierde la correlación (R^2 0.53 $p=$ 0.14). También se encontró correlación con la activación inmunológica -particularmente con la expresión de HLADR y su expresión simultánea con CD38+, esta correlación se mantiene solo en el subgrupo de sujetos viremicos. Interesantemente en la exploración de las variables dicotómicas hubo diferencia de las células con marcador de envejecimiento inmunológico entre hombres y mujeres.

Cuadro 5. Coeficiente de correlación de Pearson entre las células TCD4+, las subpoblaciones envejecidas y marcadores de activación inmune e inflamación

	T CD4+	TCD4+ Vírgenes	TCD4+ de memoria central	TCD4+ de memoria efectora	TCD4+ TemRA
CD4+ activada doble marcador+	0.8032*	0.7962	0.6511	0.4822	0.7026
Valor de p	< 0.001	< 0.001	0.0019	0.0313	0.0006
CD4+ activada CD38+	0.3521	0.1599	0.2939	0.1616	-0.0685
Valor de p	0.1279	0.5006	0.2085	0.4961	0.7742
CD4+ activada HLA DR+	0.7114	0.7108	0.3905	0.5586	0.6051
Valor de p	0.0004	0.0004	0.0887	0.0105	0.0047
CD4+ proliferativa Ki67+	0.3648	0.3819	0.3037	0.1197	0.1028
Valor de p	0.1137	0.0966	0.193	0.6152	0.6662
PCR	0.1652	0.2838	0.1977	-0.0248	0.1941
Valor de p	0.4863	0.2253	0.4035	0.9173	0.4122
IL-6	0.3670	0.4111	0.3933	0.2138	0.3622
Valor de p	0.1341	0.0901	0.1063	0.3944	0.1397
Fibrinógeno	0.0520	0.1699	0.0759	-0.0972	0.1101
Valor de p	0.8275	0.4738	0.7505	0.6835	0.6442
Dímero D	-0.2023	-0.0641	-0.1127	-0.1553	-0.2019
Valor de p	0.3924	0.7883	0.6360	0.5132	0.3932

Figura 2. Las células TCD4+ envejecidas correlacionan con el Log de la carga viral

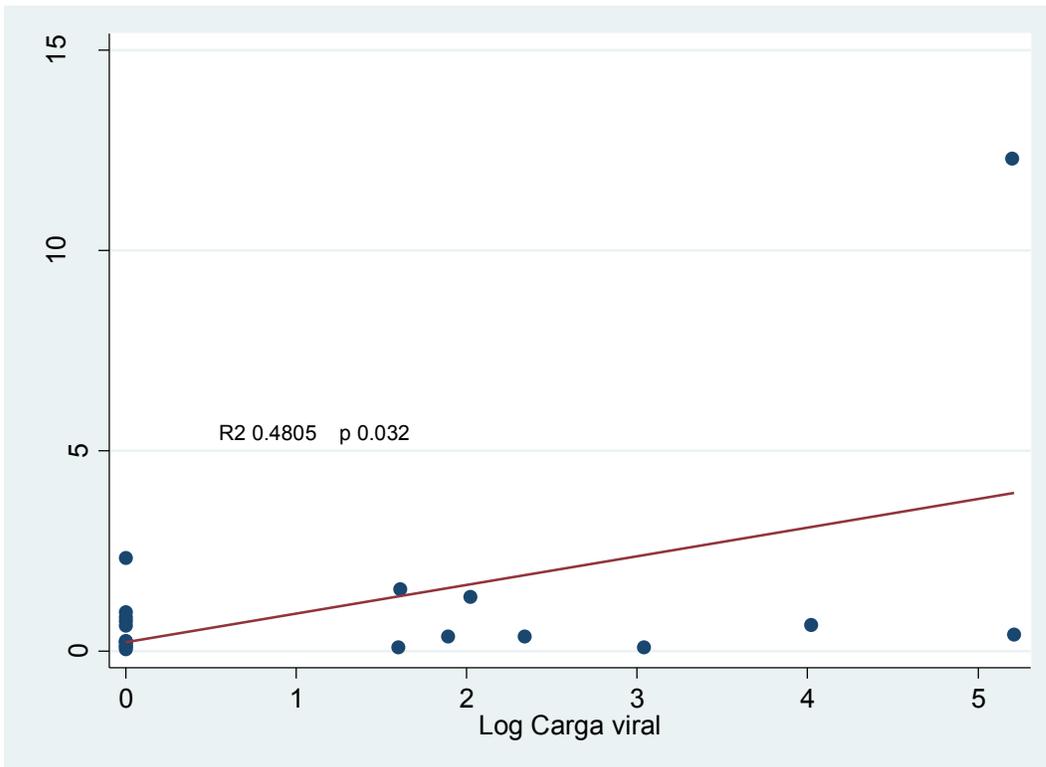


Figura 3. Ausencia de correlación entre las células TCD4+ envejecidas y el log de la carga viral en el grupo viremico

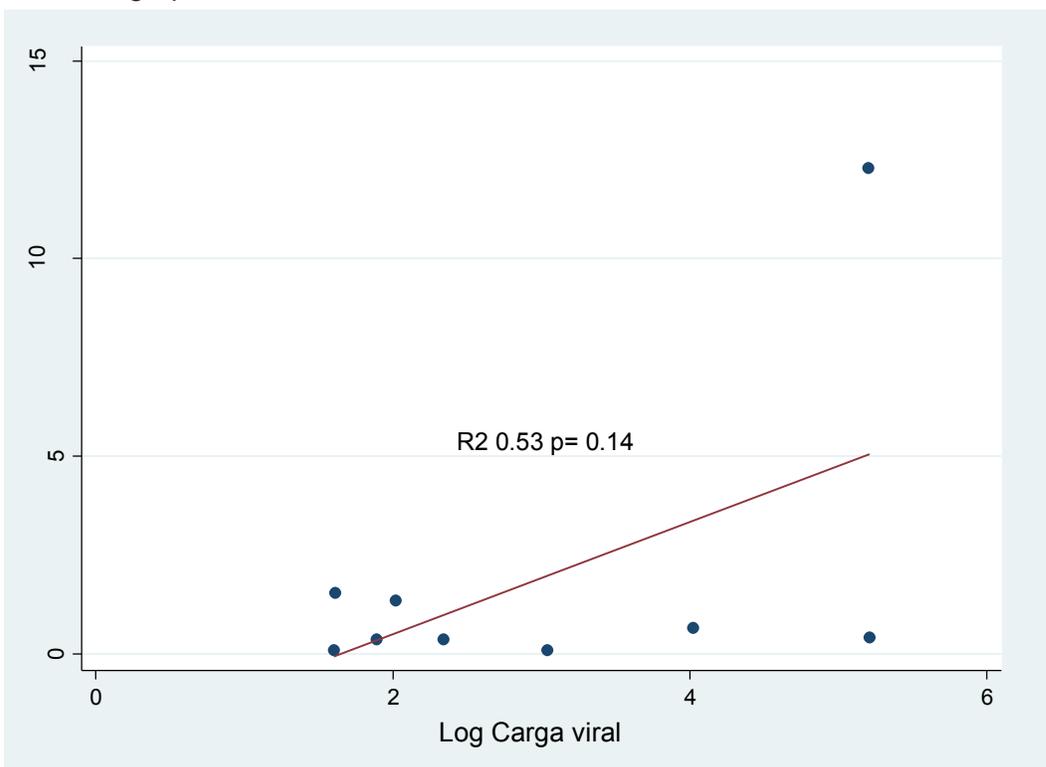


Figura 4. Las células TCD4+ envejecidas correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLADR+

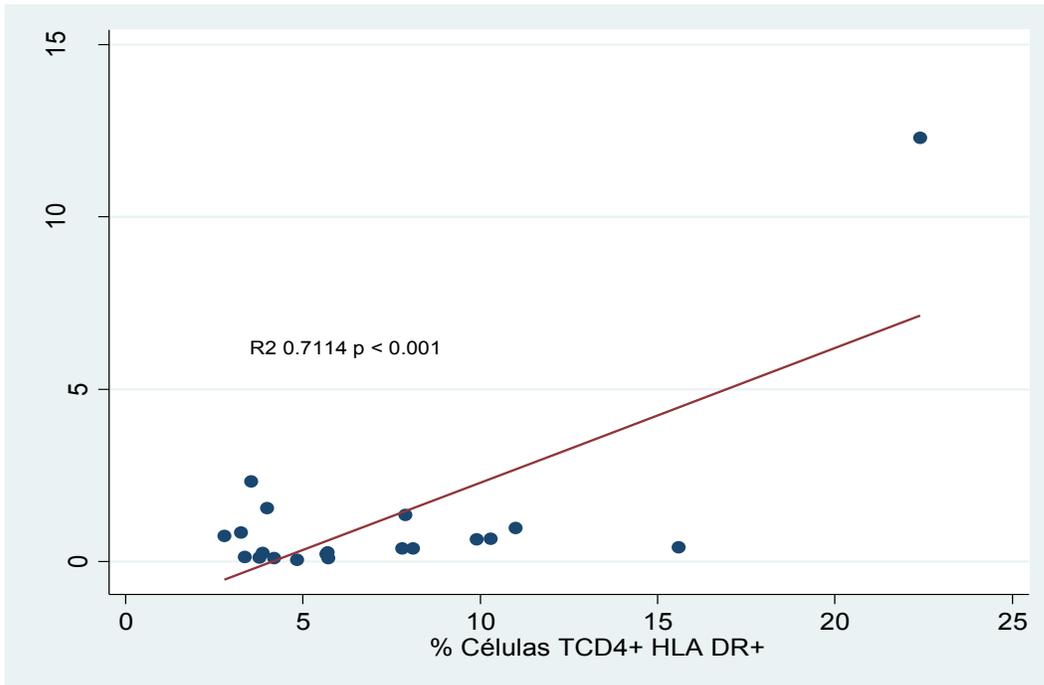


Figura 5. La correlación de las células TCD4+ con la expresión de HLADR+ solo está presente en el grupo de sujetos viremicos

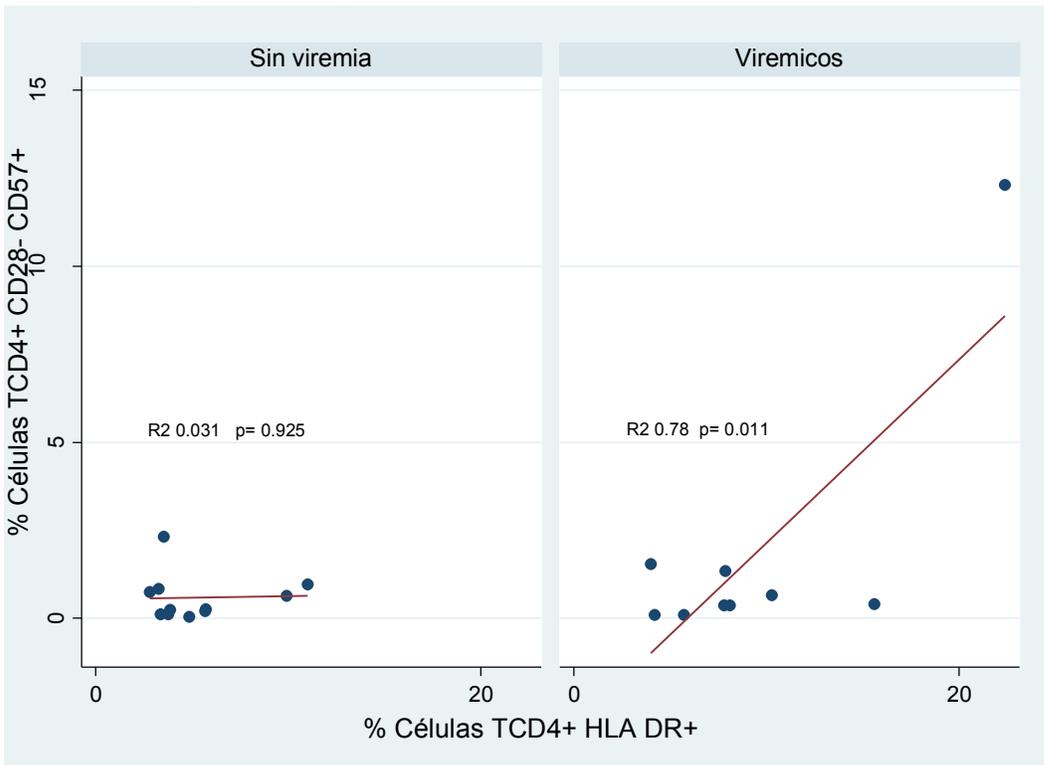


Figura 6 Las células TCD4+ envejecidas correlacionan con la expresión del doble marcador de activación inmune

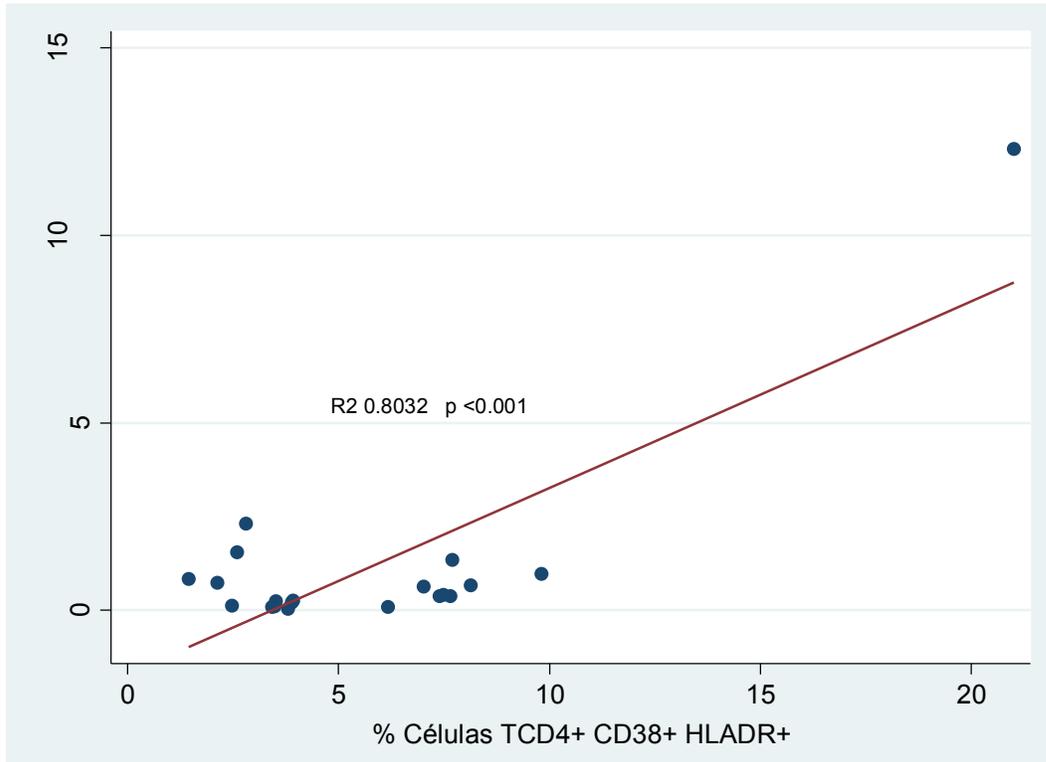


Figura 7. La correlación de las células TCD4+ envejecidas con la expresión del doble marcador de activación inmune solo está presente en el grupo de sujetos viremicos.

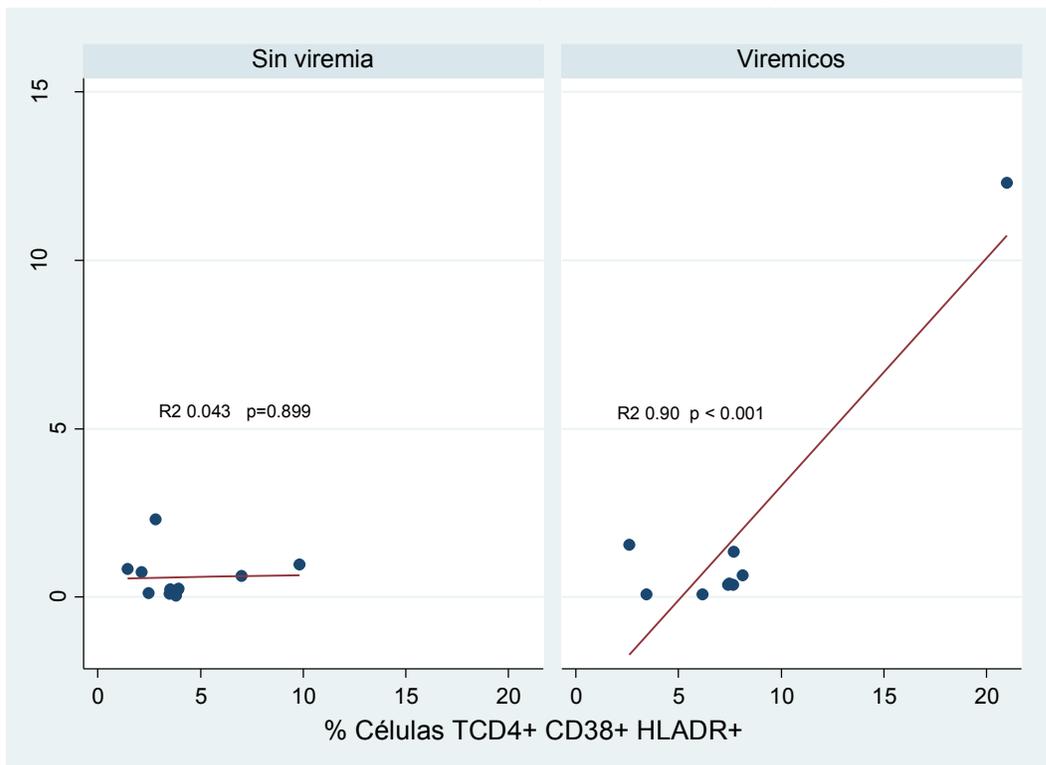
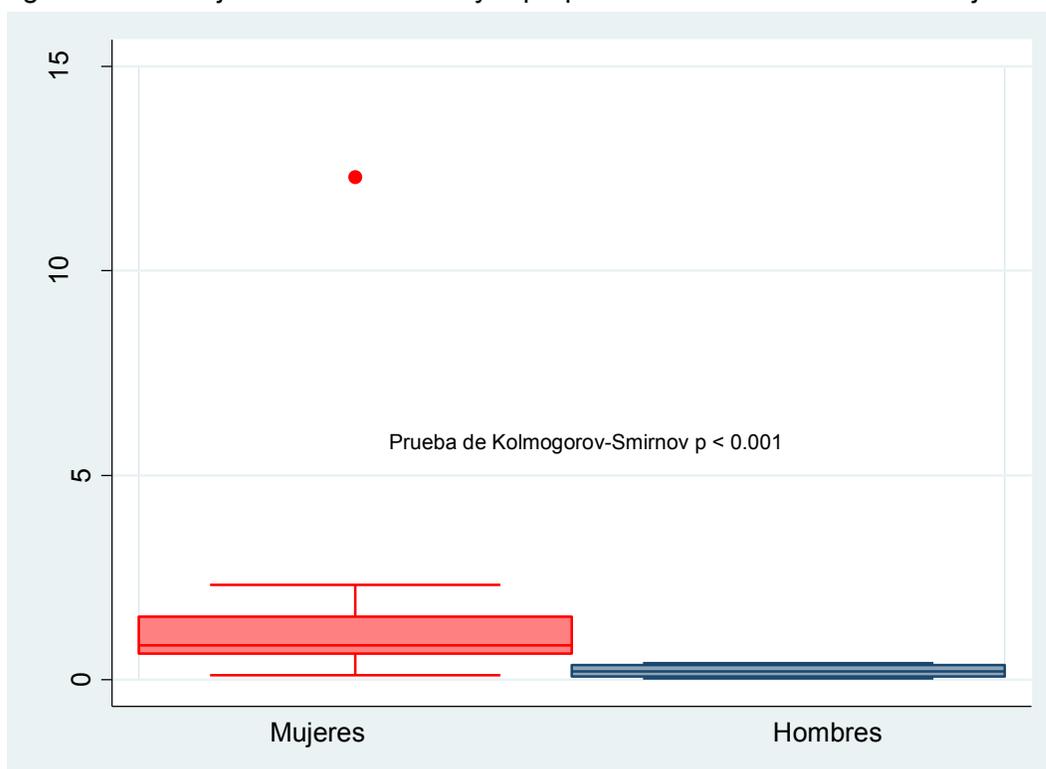


Figura 8. Las mujeres tienen una mayor proporción de células TCD4+ envejecidas



En la subpoblación de células vírgenes también se encontró correlación con el logaritmo de la carga viral, sin embargo, cuando se evaluó solo al grupo viremico se observa que se pierde esta asociación, posiblemente por un efecto del tamaño de la muestra y la presencia de dos valores extremos. La expresión de HLADR y su expresión simultánea con CD38 correlacionan con el porcentaje de células TCD4+ vírgenes envejecidas, al evaluar esta correlación por subgrupos se mantiene la correlación.

Figura 9. Las células TCD4+ vírgenes envejecidas correlacionan con el Log de la carga viral

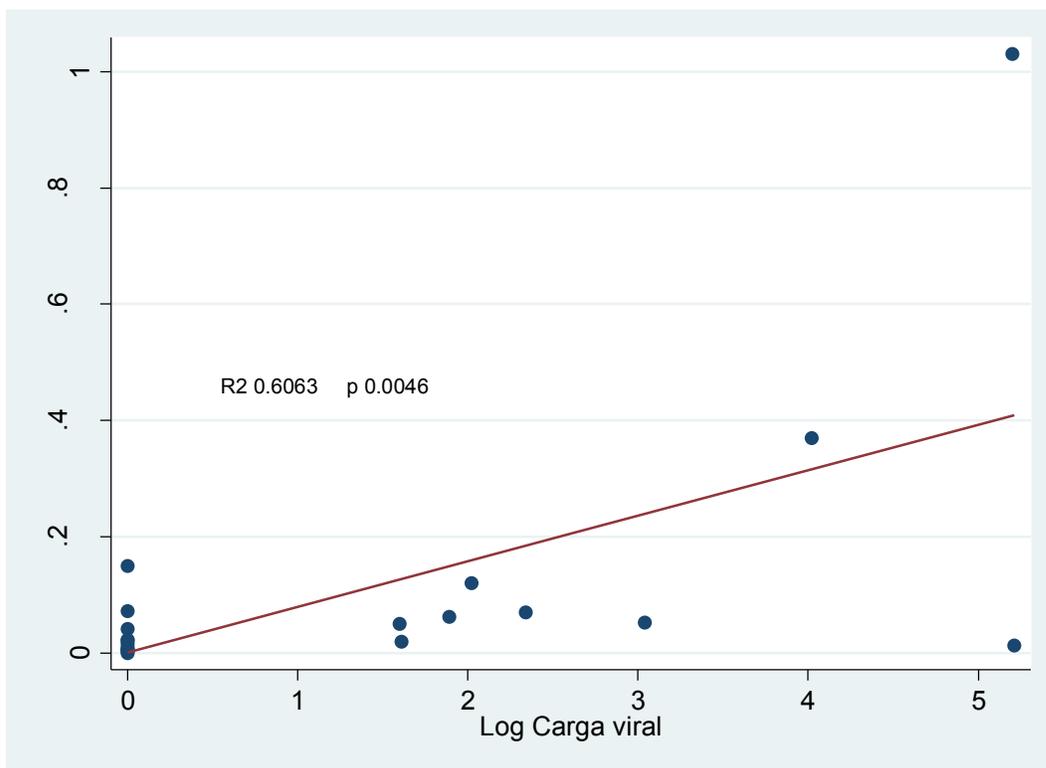


Figura 10. Ausencia de correlación entre las células TCD4+ vírgenes envejecidas y el Log de la carga viral, en el grupo viremico

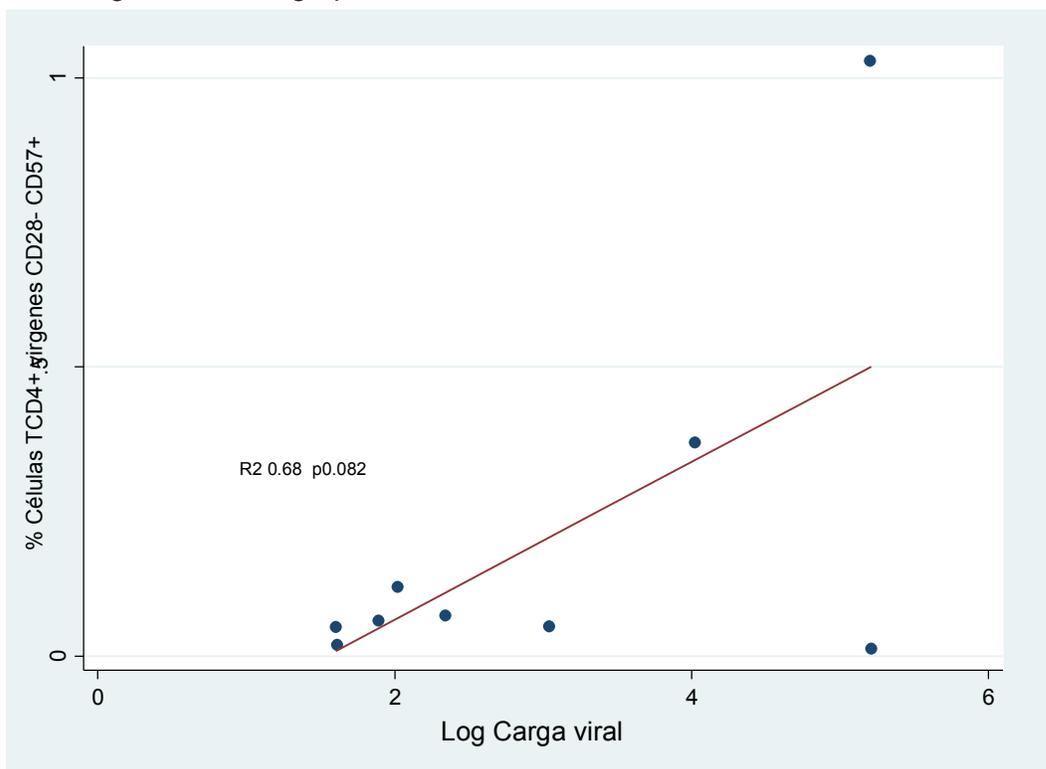


Figura 11 Las células TCD4+ vírgenes envejecidas, correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLADR+.

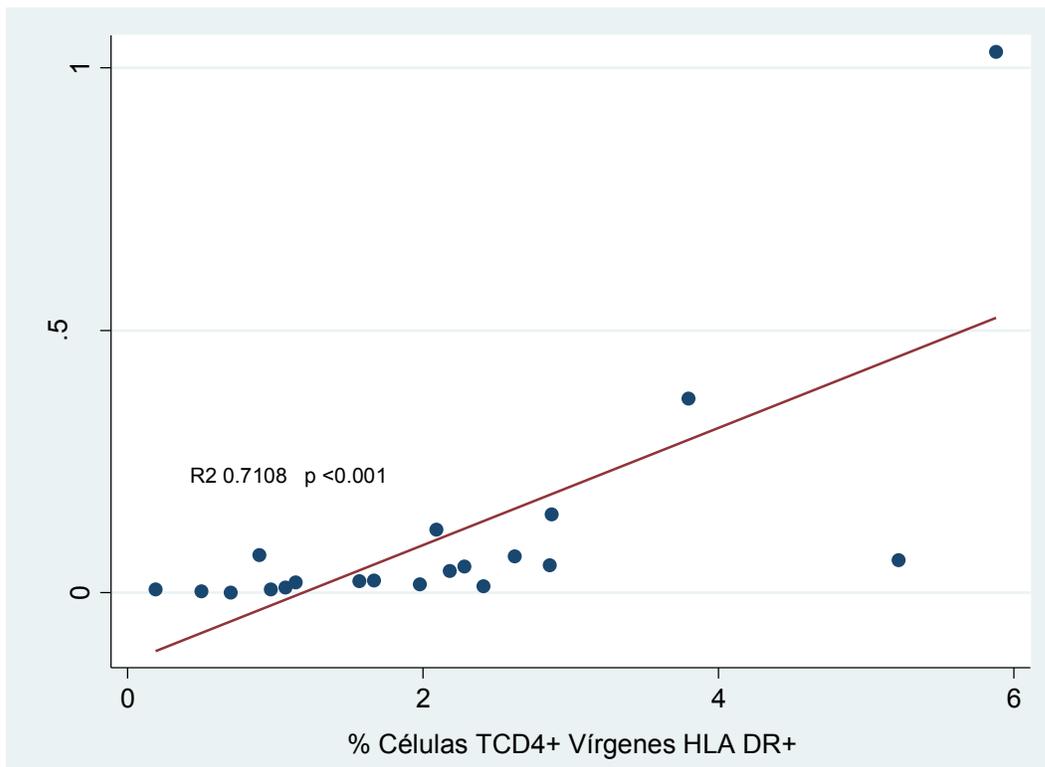


Figura 12. Las células TCD4+ vírgenes envejecidas, correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLADR+ en ambos subgrupos

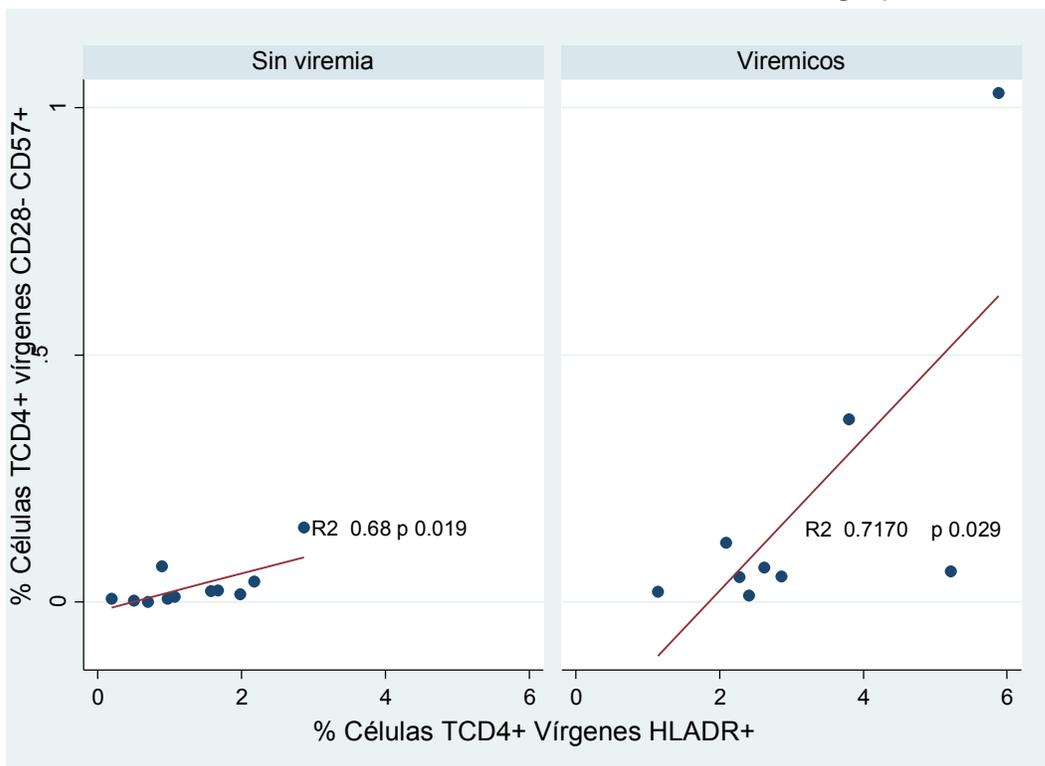


Figura 13 Las células TCD4+ vírgenes envejecidas correlacionan con la expresión del doble marcador de activación inmune

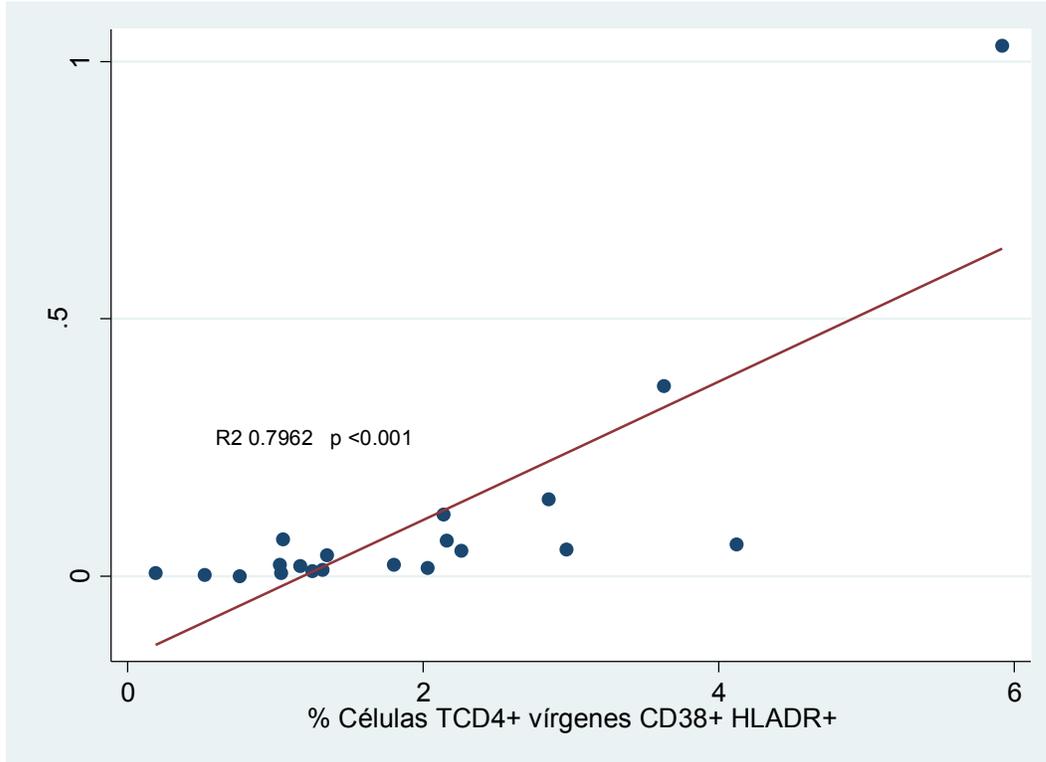
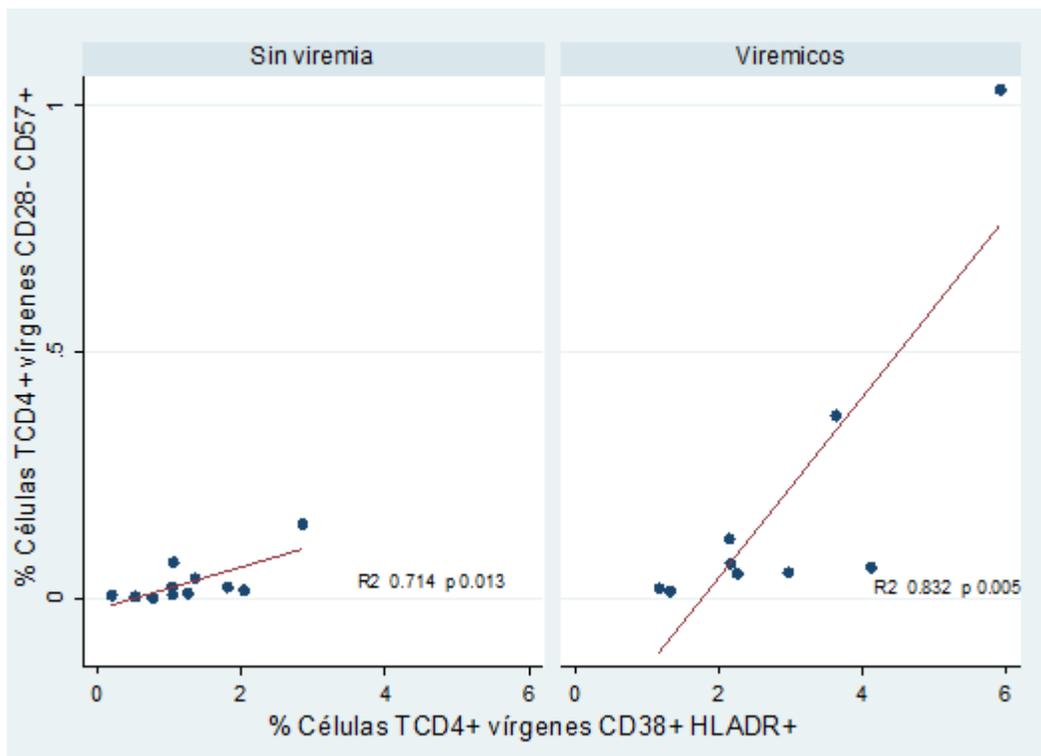


Figura 14 Las células TCD4+ vírgenes envejecidas correlacionan con la expresión del doble marcador de activación inmune independientemente del grupo estudiado



La subpoblación de células T CD4+ de memoria central se encontró una correlación entre las células envejecidas y el logaritmo de la CV y la expresión simultanea de CD38+ y HLADR+. En el análisis estratificado, el grupo con viremia mantiene la correlación entre las células T CD4+ de memoria central envejecidas y el logaritmo de la CV. Solo se mantuvo la correlación entre las células TCD4+ de memoria central envejecidas y la expresión de las dos moléculas de activación inmune en los sujetos virémicos. En esta subpoblación también hubo diferencia de las células con marcador de envejecimiento inmunológico entre hombres y mujeres.

Figura 15. Correlación entre TCD4+ memoria central envejecidas y Log de la carga viral

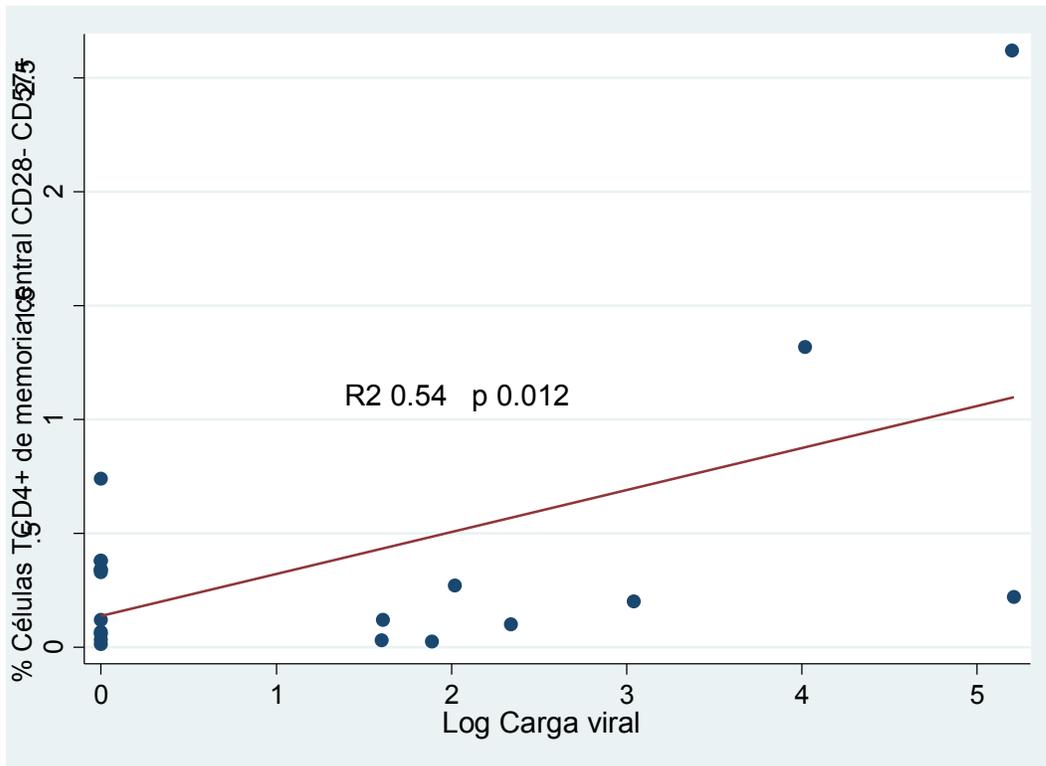


Figura 16. Las células TCD4+ de memoria central envejecidas, correlacionan con el Log de la carga viral en sujetos viremicos

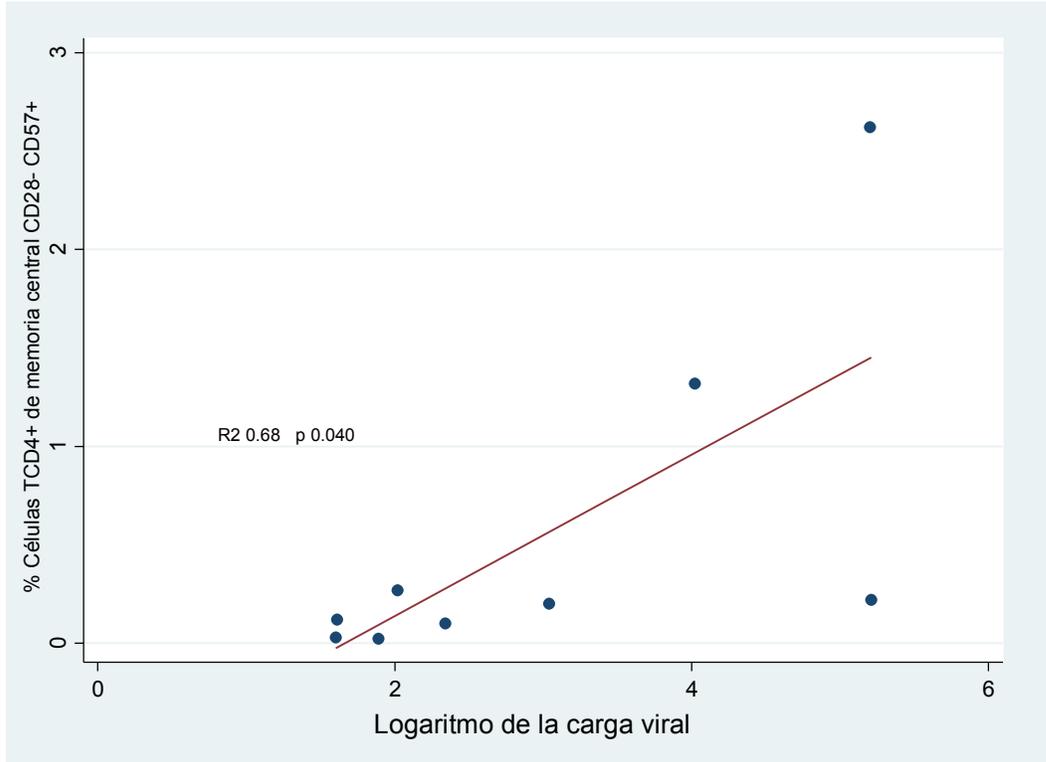


Figura 17. Las células TCD4+ de memoria central envejecidas, correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLA DR+ CD38+

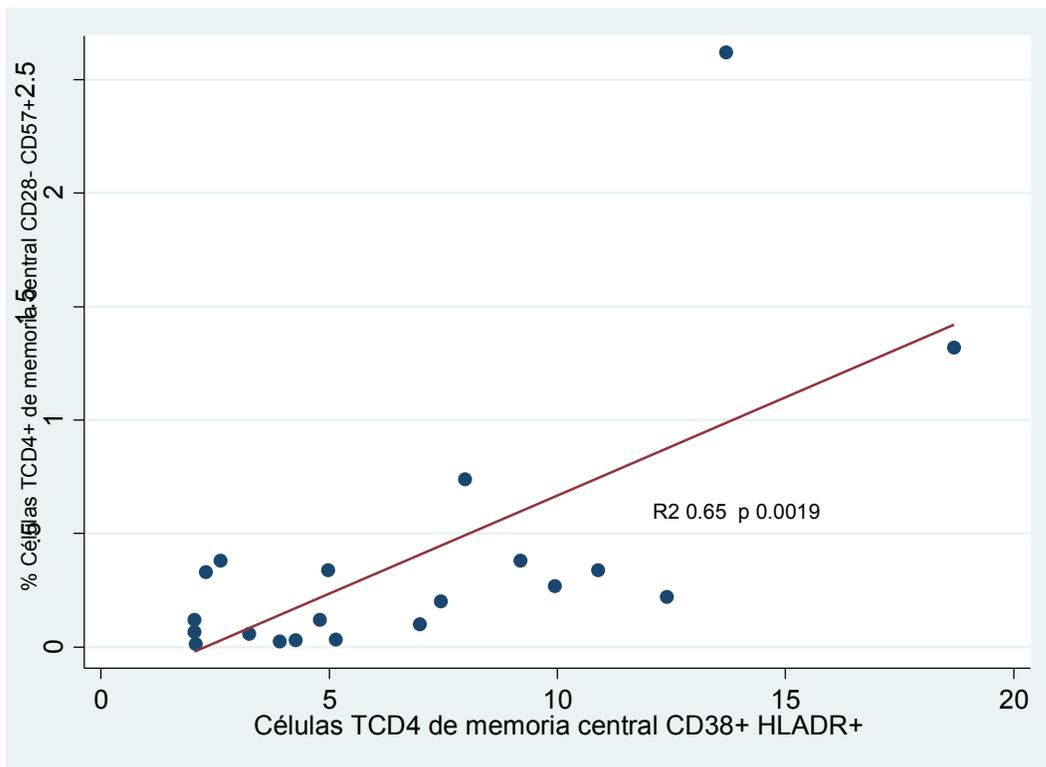


Figura 18. La correlación entre las células TCD4+ de memoria central envejecidas y la expresión de HLADR+/CD38+ están presentes solo en los sujetos viremicos

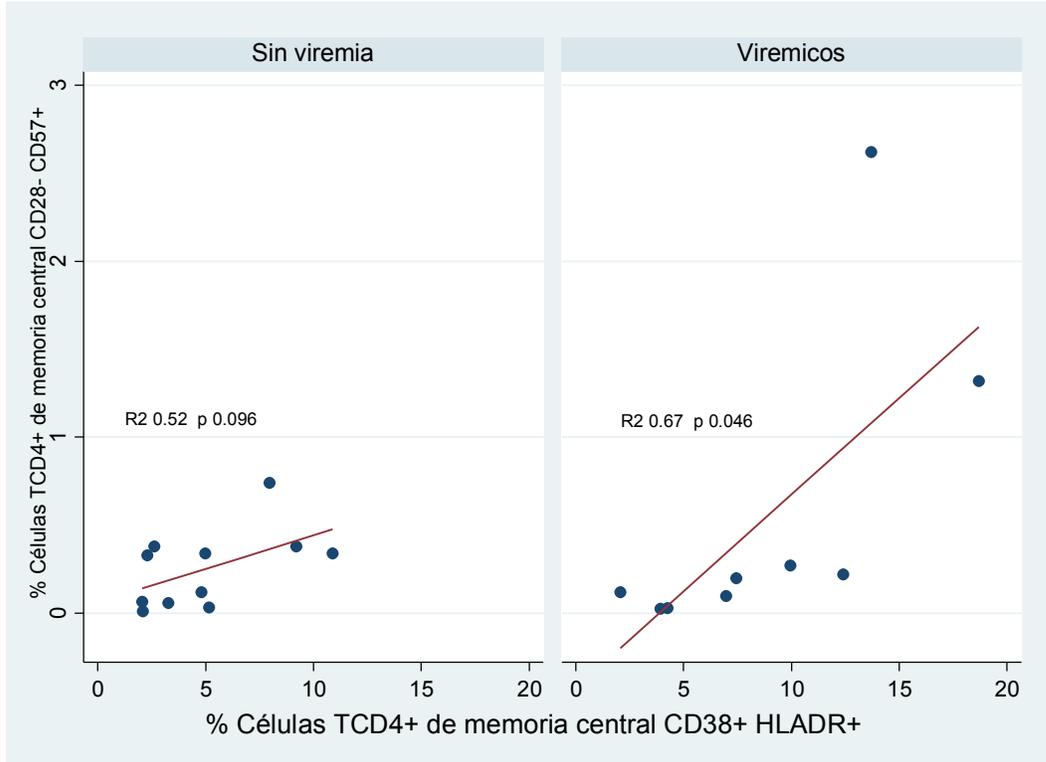
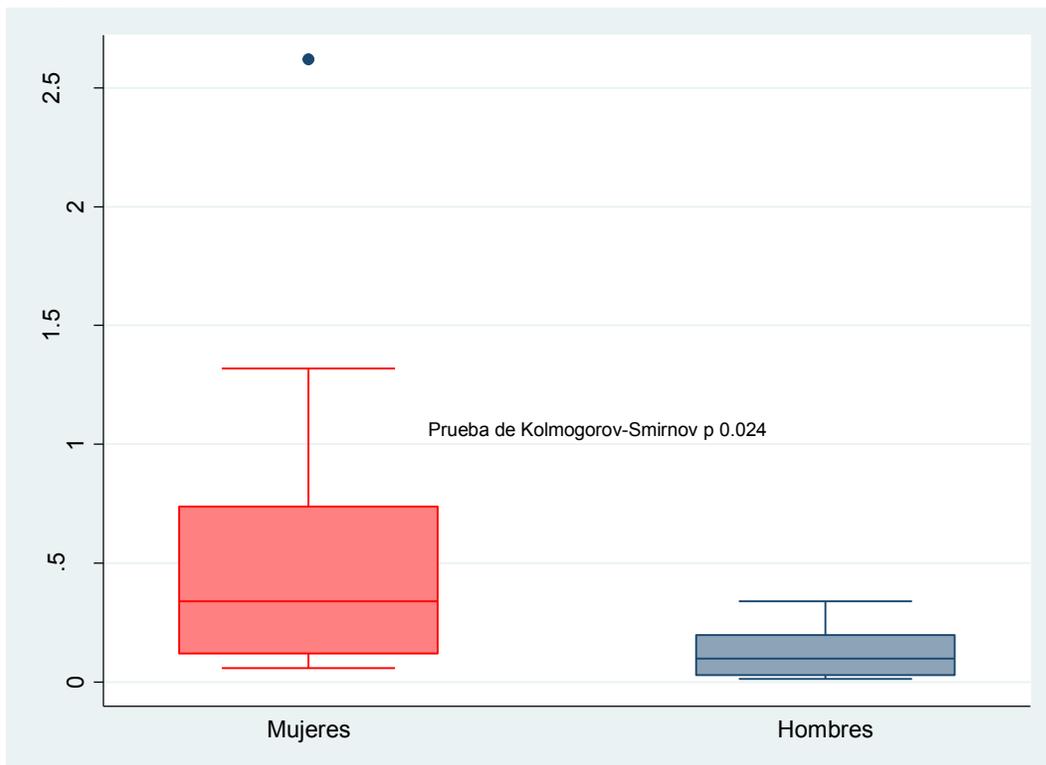


Figura 19 Las mujeres tienen una mayor proporción de células TCD4+ de memoria central envejecidas



Las células TCD4+ de memoria efectoras envejecidas, no tienen correlación con el logaritmo de la CV, sin embargo, si hay correlación con la expresión de HLADR+ y su expresión simultánea con CD38+. Estas correlaciones solo se observan en el grupo de sujetos viremicos.

Figura 20. Las células TCD4+ de memoria efectoras envejecidas, correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLA DR+

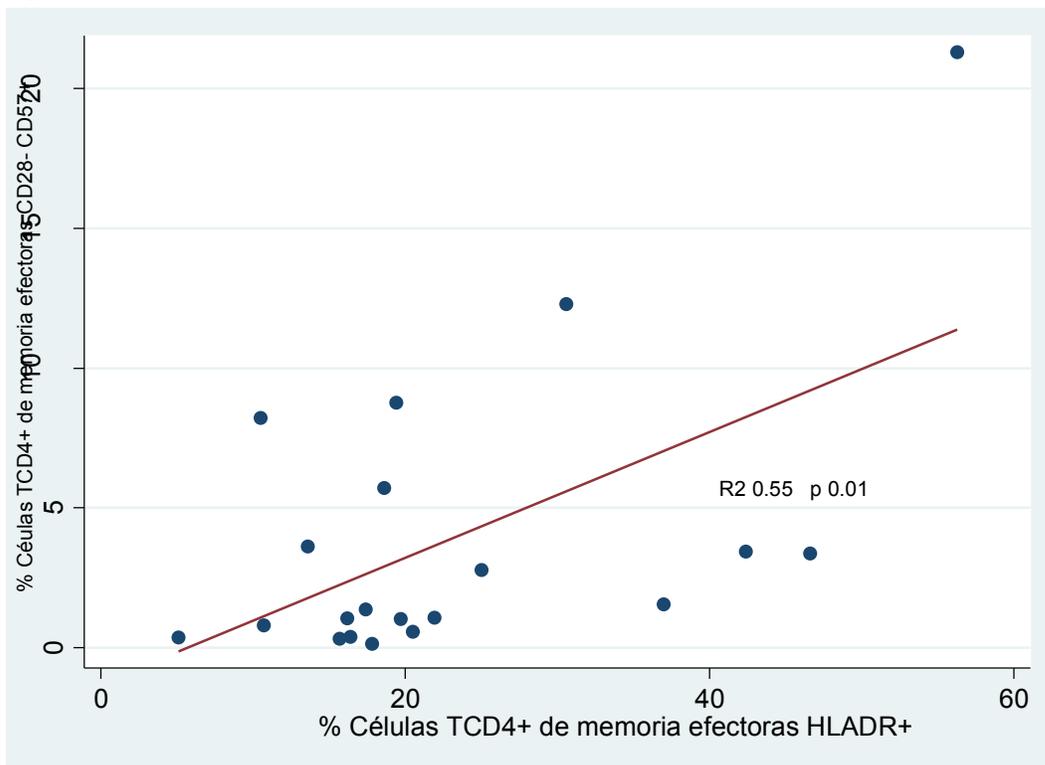


Figura 21. Las células TCD4+ de memoria central efectoras envejecidas, correlacionan con la expresión de HLA DR+ solo en el grupo virémico

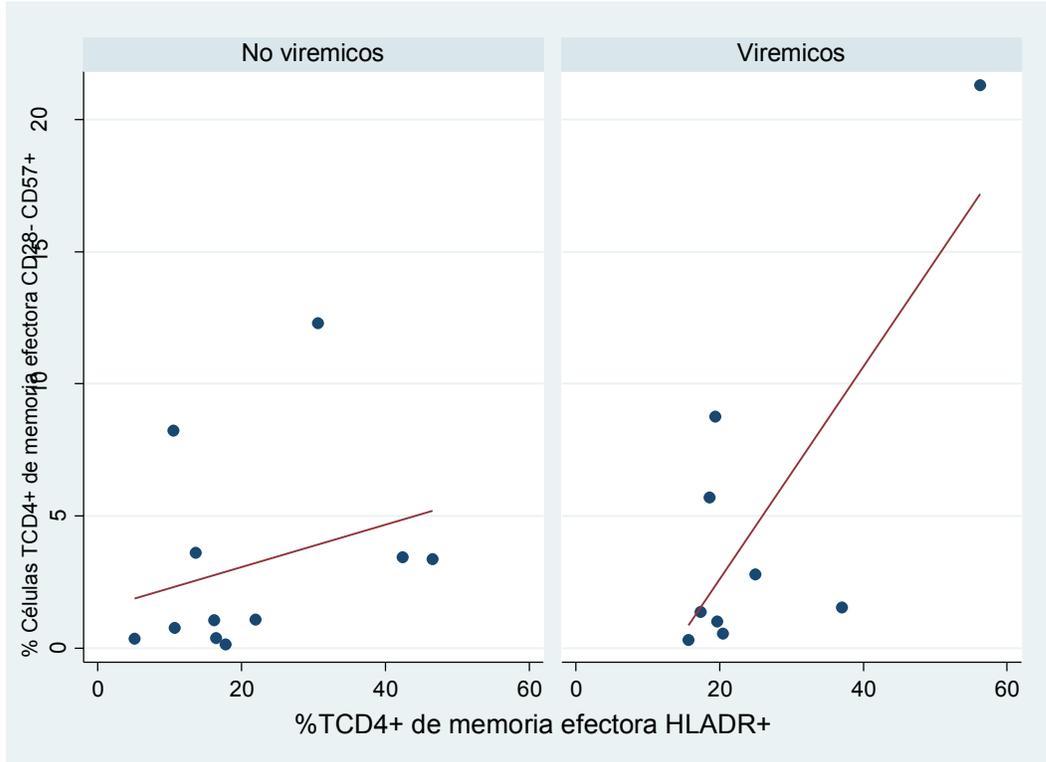


Figura 22. Las células TCD4+ de memoria efectoras envejecidas, correlacionan con la expresión de HLADR+ CD38+

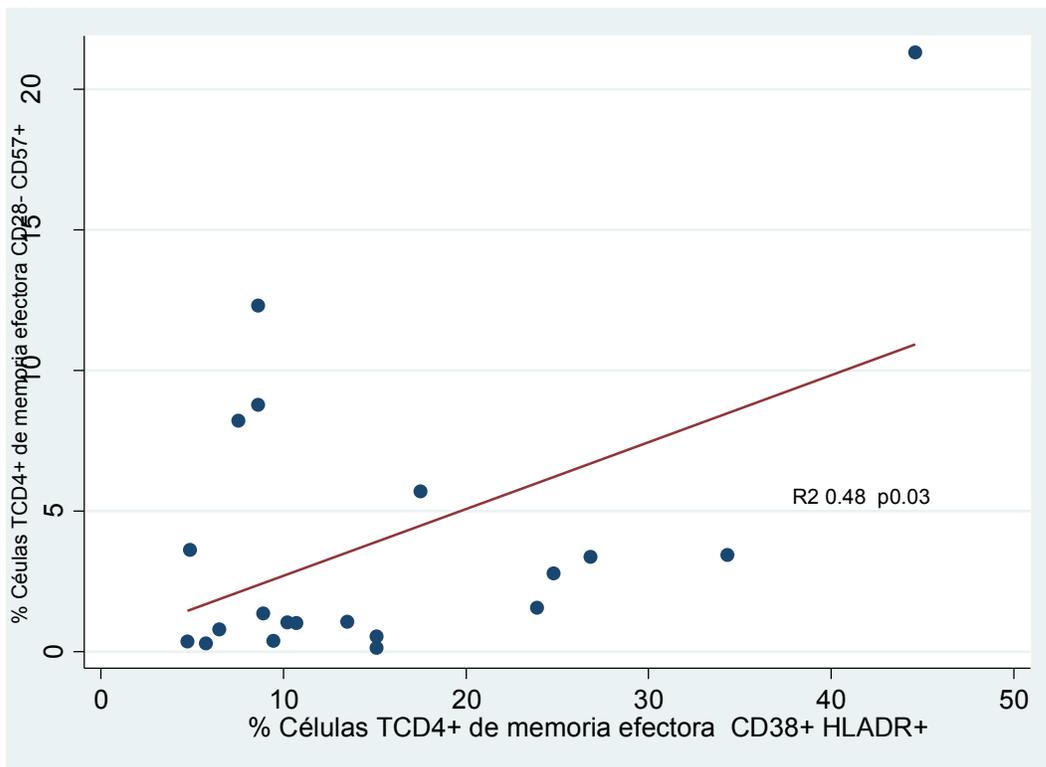
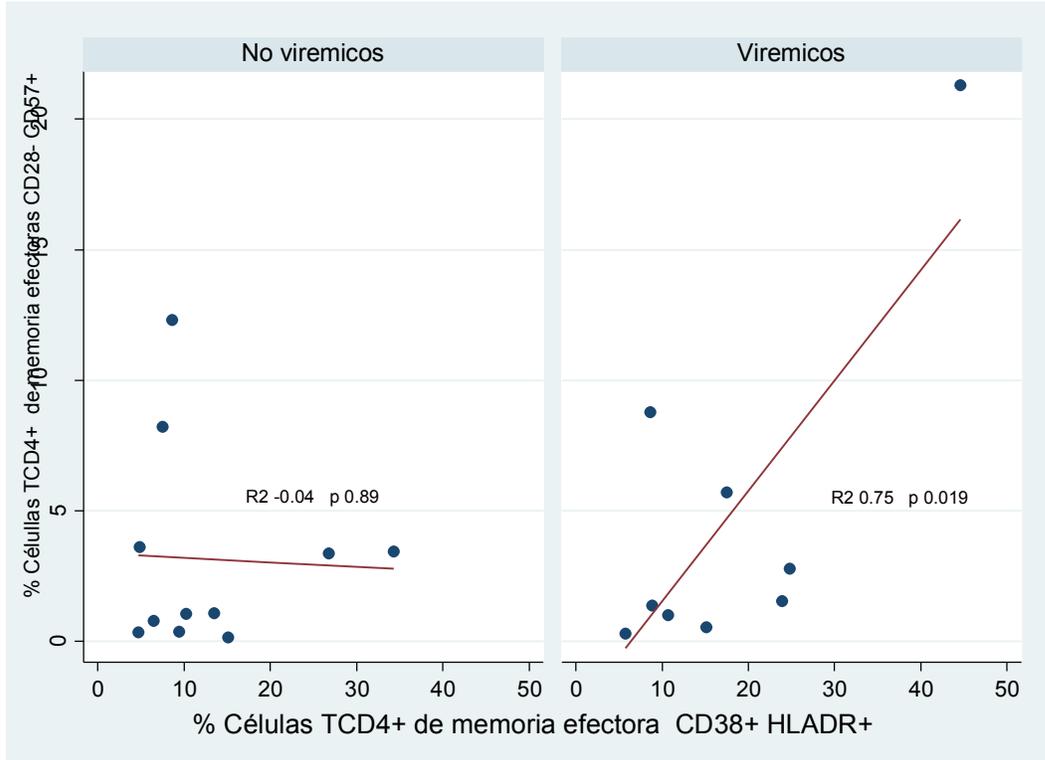


Figura 23. Las células TCD4+ de memoria efectoras envejecidas, correlacionan con la expresión de HLA DR+ CD38+ solo en el grupo virémico



En las células TCD4+TemRA envejecidas tampoco encontramos una correlación con el logaritmo de la CV en forma global ni en el análisis estratificado. Persiste la correlación con HLADR+ pero se pierde en el análisis estratificado; existe correlación con la expresión simultanea de CD38+ y HLADR+ en el análisis global y en el grupo de sujetos viremicos, adicionalmente en esta subpoblación se observa una correlación negativa entre las células CD4+ TemRA+ envejecidas y la expresión de CD38+.

Figura 24. Las células TCD4+ TemRA envejecidas, correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLA DR+

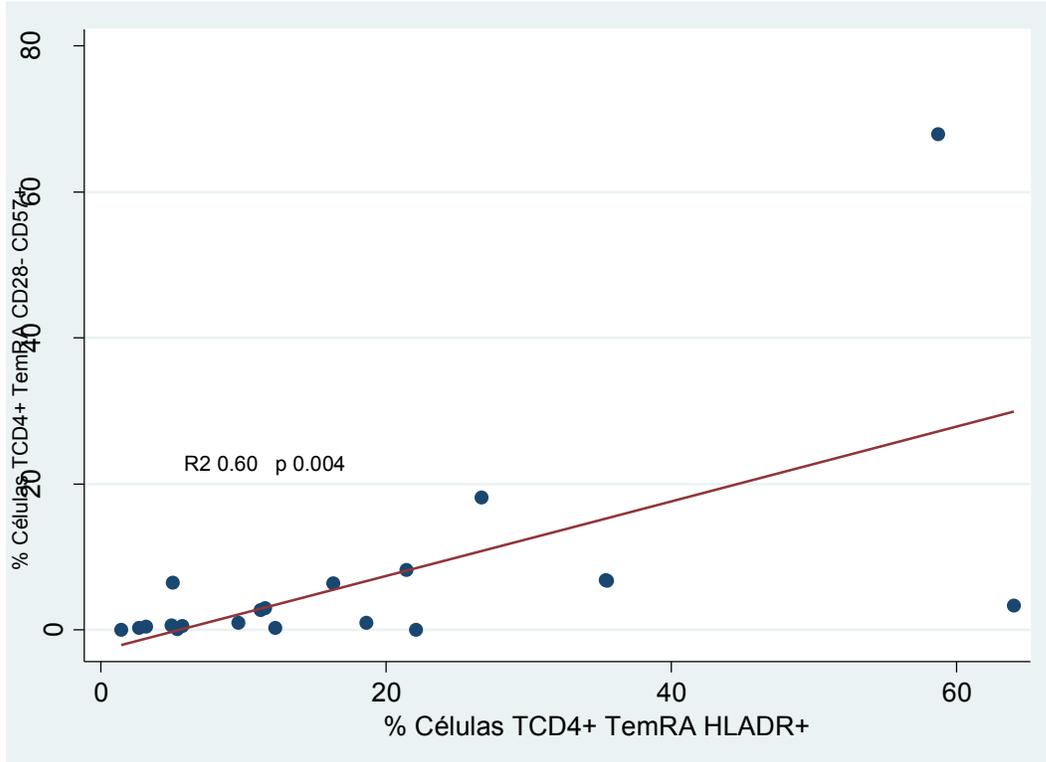


Figura 25. No hay correlación entre las células TCD4+ TemRA envejecidas y la expresión del marcador de activación inmune HLA DR+ en el análisis estratificado

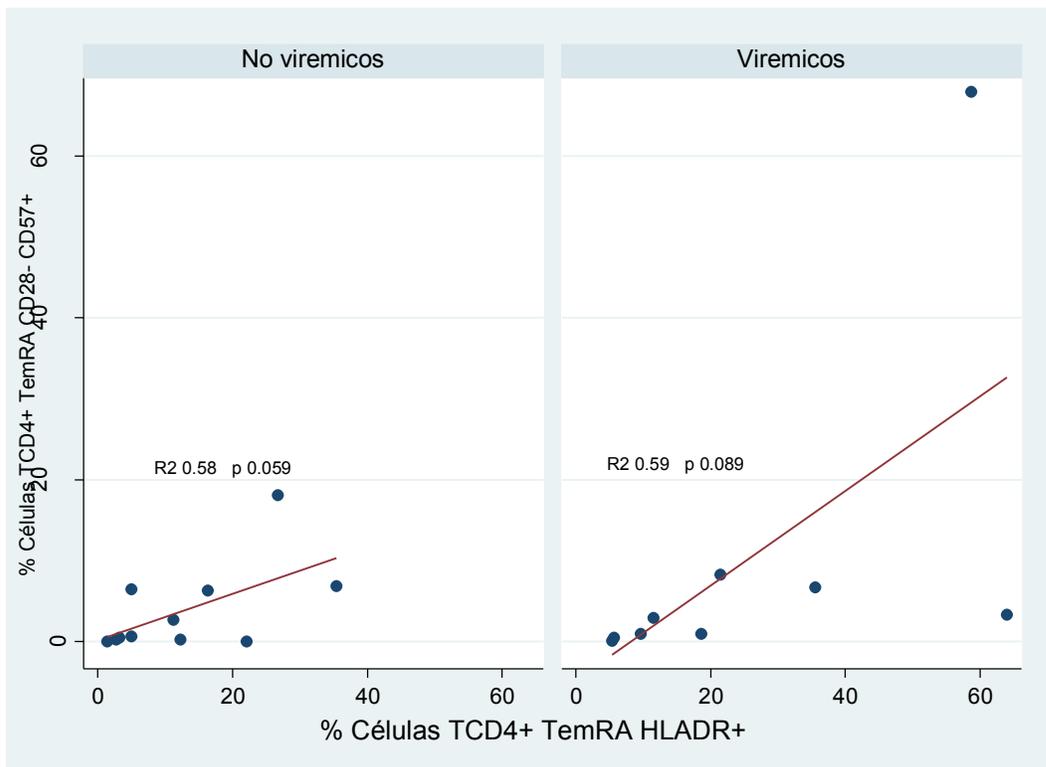


Figura 26. Correlación entre las células TCD4+ TemRA envejecidas y la expresión simultánea de HLA DR+ y CD38+

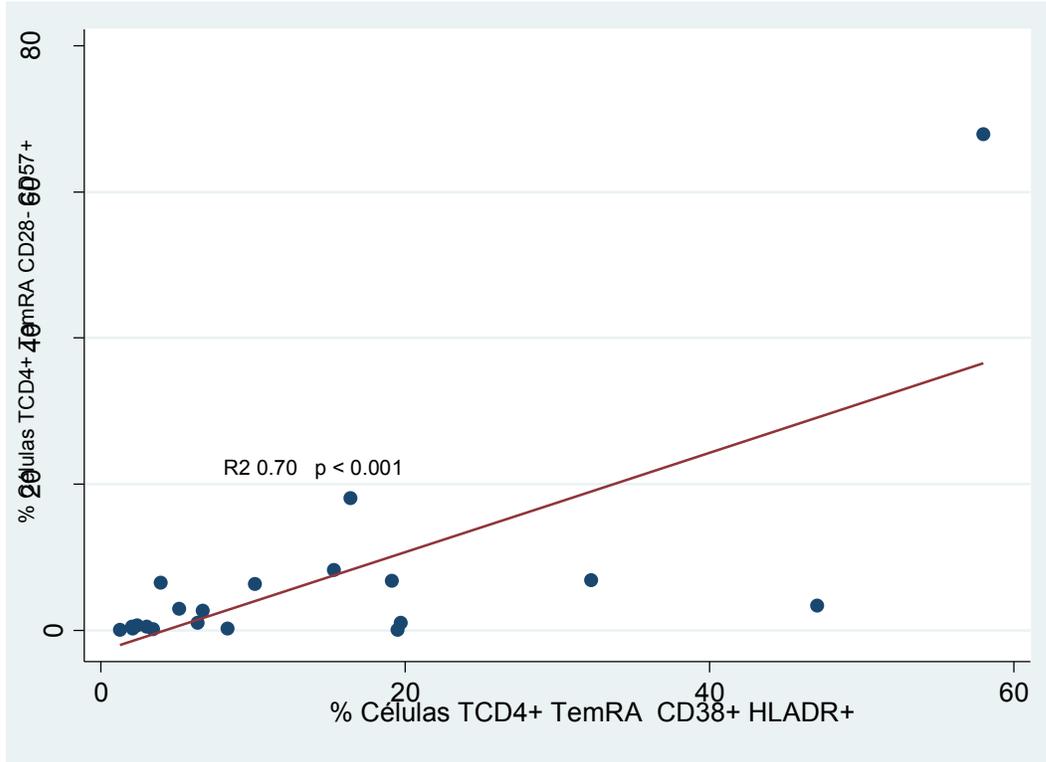


Figura 27. Correlación de las células TCD4+ TemRA envejecidas y la expresión simultánea de HLA DR+ y CD38 en sujetos viremicos

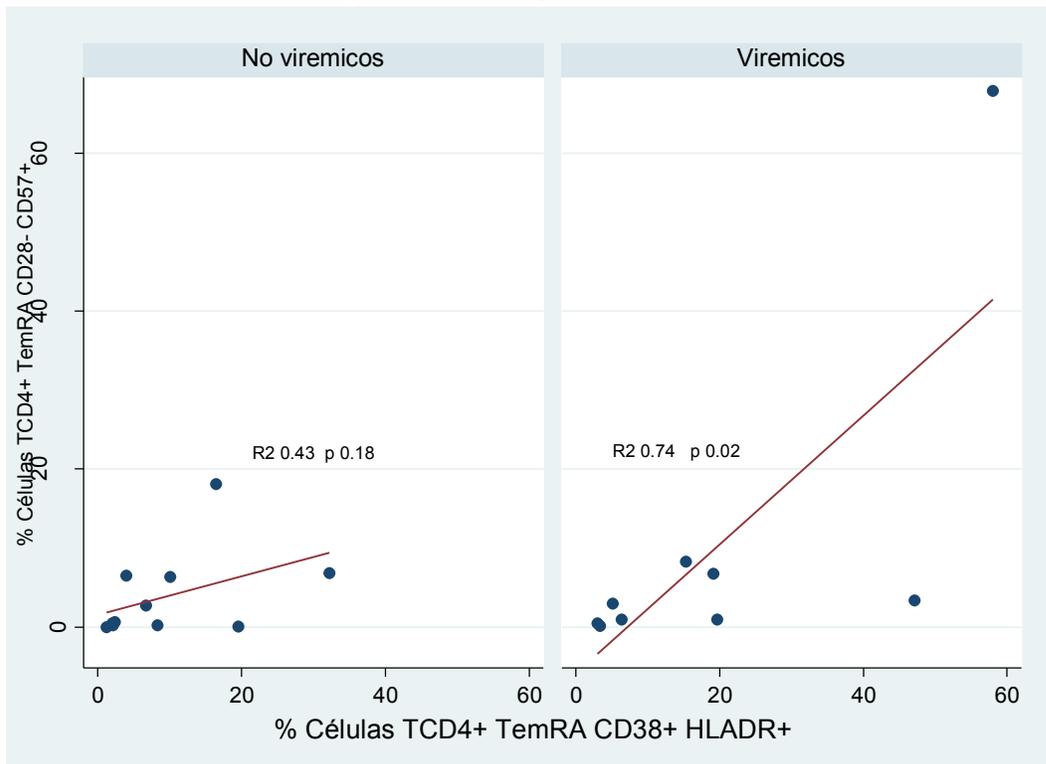
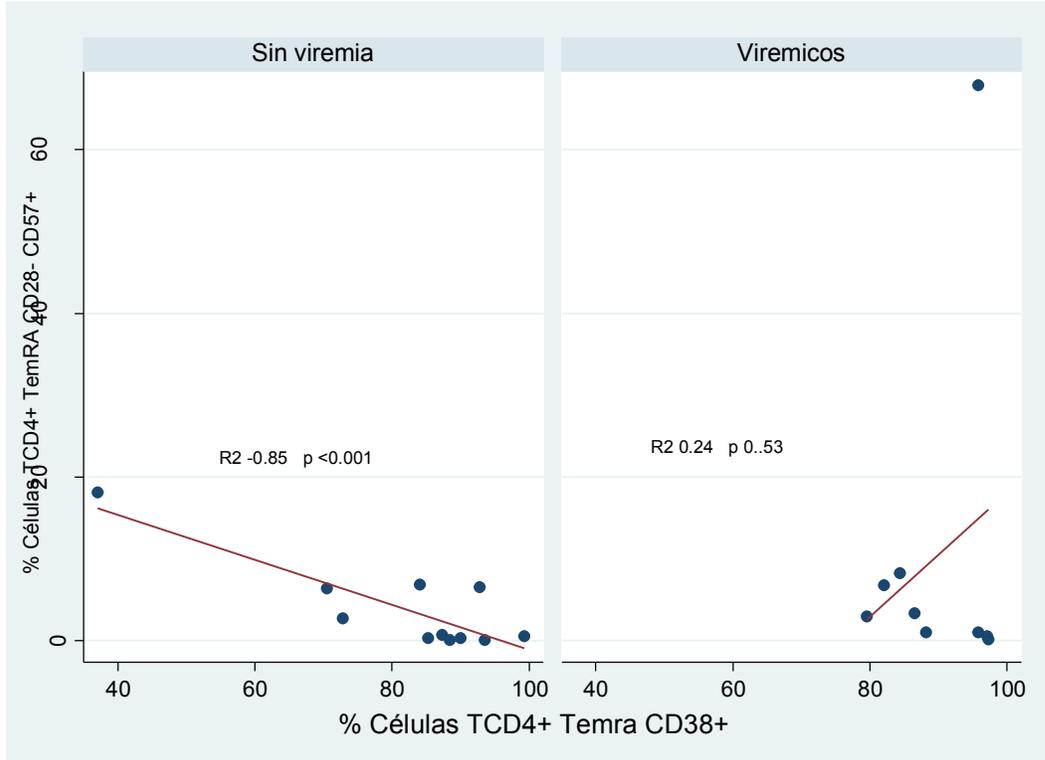


Figura 28. Correlación negativa entre las células TCD4+ TemRA envejecidas y la expresión de CD38 en el grupo sin viremia



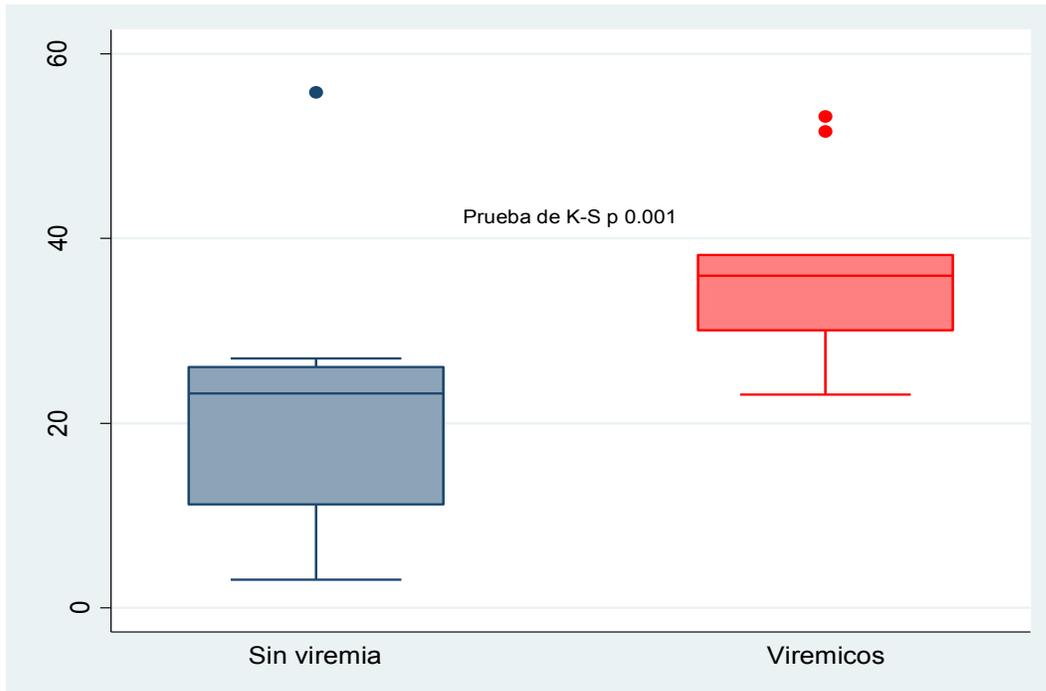
Células T CD8+

Resultados por subpoblación de linfocito TCD8+ estudiada

En las células TCD8+ observamos que no hay diferencias de la mediana entre sujetos con y sin viremia, sin embargo, cuando se evalúan las subpoblaciones celulares, la mediana del porcentaje de las células TCD8+ vírgenes es mayor en los sujetos sin viremia (56.3 IC 46.8 – 62 Vs 31.3 RIC 28.8 - 41.2). En forma inversa la mediana del porcentaje de las células TCD8+ efectoras de memoria central es mayor en los sujetos viremicos (42.4 RIC 34.2 - 45.8 vs 24.5 RIC 9.8 - 29.3).

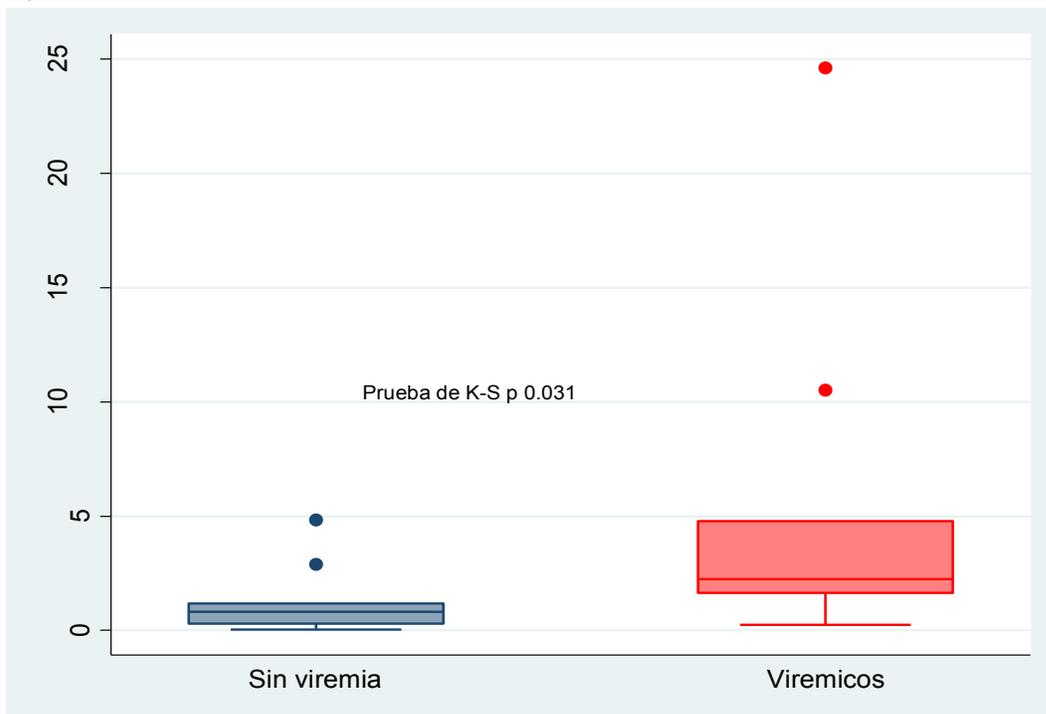
Al analizar el envejecimiento celular en las células TCD8+ y sus subpoblaciones celulares, encontramos que solo en el total de las células TCD8+ y en las TCD8+ vírgenes la mediana del porcentaje de células que expresan los marcadores de envejecimiento, son mayores en el grupo de sujetos viremicos. Adicionalmente la mediana de las células que expresan marcadores de activación inmunológica fueron mayores en los sujetos viremicos (Tabla 5).

Figura 29. El porcentaje de células TCD8+ envejecidas es mayor entre los sujetos virémicos



Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Figura 30. El porcentaje de células TCD8+ vírgenes envejecidas es mayor entre los sujetos virémicos



K-S. Prueba de Kolomogorov-Smirnov

Cuadro 5. Distribución de las subpoblaciones de células TCD8+

Variable	Todos los niños, Mediana (IC25-75)	Viremicos, Mediana (IC25-75)	Sin viremia, Mediana (IC25-75)	p
TCD8+, n	1182 (861 - 1467)	1433 (1139 - 1479)	981 (717 - 1420)	0.25
Subpoblación				
TCD8+ Virgen, %	46.7 (30.85 - 57.4)	31.3 (28.8 - 41.2)	56.3 (46.8 - 62)	0.001
TCD8+ de memoria central, %	3.26 (1.84 - 5.21)	4.43 (2.28 - 6.13)	2.65 (1.68 - 4.08)	0.37
TCD8+ de memoria efectora, %	29.75 (24.1 - 41.8)	42.4 (34.2 - 45.8)	24.5 (19.8 - 29.3)	0.006
TCD8+ TemRA, %	17.15 (14.55 - 20.35)	20.1 (17.4 - 27.9)	16.4 (14 - 18.1)	0.098
TCD8+				
Células envejecidas, %	26.55 (17.3 - 36.9)	36(30.1 - 38.2)	23.2 (11.2 - 26.1)	0.001
HLAR+, %	17.25 (10.9 - 26.5)	25.9 (22.9 - 45.4)	11.1 (7.42 - 16.6)	0.001
CD38+, %	85.85 (70.1 - 90.55)	90.3 (88.3 - 93.3)	72.7 (61.3 - 83.6)	0.001
Doble marcador+, %	13 (6.88 - 22.85)	22.1 (17.2 - 32.5)	7.09 (5 - 11.2)	0.001
Ki67+, %	1.15 (0.55 - 2.85)	2.23 (1.13 (1.13 - 3.08)	0.6 (0.39 - 1.83)	0.06
TCD8+ Virgen				
Células envejecidas, %	1.17 (0.51 - 2.91)	2.24 (1.65 - 4.79)	0.82 (0.3 - 1.18)	0.031
HLADR+, %	2.51 (1.65 - 4.15)	4.23 (4 - 4.81)	1.77 (1.14 - 2.3)	0.001
CD38+, %	89.8 (81.05 - 92.55)	92.4 (89.9 - 93.4)	84.5 (71.8 - 90.9)	0.041
Doble marcador+, %	2.63 (1.48 - 4.08)	4.4 (3.7 - 4.52)	1.89 (0.99 - 2.65)	0.002
Ki67+, %	0.46 (0.17 - 0.75)	0.57 (0.32 - 0.84)	0.22 (0.09 - 0.64)	0.21
TCD8+ de memoria central				
Células envejecidas, %	13.3 (10.44 - 27.4)	16 (11.4 --31.7)	13.2 (9.67 - 20.1)	0.815
HLADR+, %	20.75 (12.5 - 40)	34.5 (12.7 - 63.8)	17.6 (9.65 - 28.5)	0.041
CD38+, %	83.35 (58.05 - 91.4)	91.4 (89.6 - 92.5)	61.7 (49.6 - 80.6)	0.001
Doble marcador+, %	18.85 (8.85 - 37.7)	36.4 (8.45 - 60.3)	15.7 (9.26 - 27.2)	0.123
Ki67+, %	4.15 (1.96 - 6.87)	4.31 (2.96 - 10.7)	3.05 (1.58 - 6.19)	0.76
TCD8+ de memoria efectora				
Células envejecidas, %	42.95 (32.55 - 53.6)	47.1 (41.7 - 53.7)	42.4 (26.8 - 53.5)	0.171
HLADR+, %	32.4 (26.5 - 50.8)	43.8 (33.5 - 61.9)	28.1 (21.9 - 34.5)	0.018
CD38+, %	75.5 (56.35 - 87)	87.4 (84.3 - 89.4)	57 (43.4 - 72.6)	0.001
Doble marcador+, %	31.4 (20.6 - 46.65)	44.3 (36 - 54.5)	21 (15.3 - 33.6)	0.018
Ki67+, %	2.95 (1.01 - 5.61)	4.05 (2.69 - 5.71)	1.07 (0.65 - 4.18)	0.21
TCD8+ TemRA				
Células envejecidas, %	58.4 (41.65 - 67.9)	66.4 (53.8 - 68.6)	45.2 (20.2 - 60.7)	0.12
HLADR+, %	25.7 (15.65 - 35.1)	34.7 (21.6 - 54.5)	24.3 (9.85 - 27.1)	0.15
CD38+, %	77.8 (61.65 - 88.3)	88.4 (83.3 - 90.4)	62.8 (53.8 - 76.8)	0.001
Doble marcador+, %	22.3 (13.45 - 26.55)	26.3 (24.7 - 40.4)	13.6 (9.45 - 25.3)	0.005
Ki67+, %	0.61 (0.33 - 1.65)	1.27 (0.69 - 0.33)	0.53 (0.32 - 1.63)	0.98

Análisis de otras variables explicativas

Las otras variables evaluadas, fueron variables clínicas incluyendo el logaritmo natural de la carga viral, los marcadores de activación inmunológica y los marcadores solubles de inflamación, la evaluación se realizó por la correlación de Spearman (Cuadro 6 y 7).

Cuadro 6. Coeficiente de correlación de Pearson, en las subpoblaciones de células TCD8+ envejecidas contra las variables clínicas.

	Células T CD8+	Células T CD8+ Vírgenes	Células T CD8+ memoria central	Células T CD8+ memoria efectoras	Células T CD8+ TemRA
Nadir Células CD4+	0.0151	-0.0475	-0.142	-0.0724	-0.0707
Valor de p	0.9497	0.8423	0.5502	0.7617	0.7672
Log CV	0.5004	0.5398	0.4689	0.1811	0.2067
Valor de p	0.0246	0.014	0.037	0.4449	0.3819
Log CV al					
diagnóstico	-0.0544	-0.0114	-0.2563	0.0062	0.2134
Valor de p	0.8199	0.9621	0.2754	0.9794	0.3663
Edad	-0.269	-0.3645	0.043	-0.0923	-0.215
Valor de p	0.2514	0.1141	0.8571	0.6987	0.3627
Tiempo de recibir					
TARAA	-0.1262	-0.1198	0.3935	-0.1014	-0.11
Valor de p	0.6413	0.6587	0.1316	0.7086	0.685
Tiempo desde el					
diagnóstico de VIH	-0.253	-0.3629	-0.0852	-0.0839	-0.1005
Valor de p	0.2819	0.1159	0.7211	0.7252	0.6735

Tabla 7. Coeficiente de correlación de Pearson entre las subpoblaciones de células TCD8+ envejecidas y marcadores de activación inmune e inflamación

	Células T CD8+	Células T CD8+ Naive	Células T CD8+ memoria central	Células T CD8+ de memoria efectoras	Células T CD8+ TemRA
CD38+*	0.2427	0.2473	0.4252	0.1008	0.06
Valor de p	0.3026	0.2931	0.0617	0.6724	0.8015
HLA DR+*	0.4696	0.9537	0.7494	0.1749	0.3318
Valor de p	0.0367	< 0.001	< 0.001	0.4608	0.1529
CD38+, HLA DR+*	0.476	0.9568	0.8037	0.1281	0.2178
Valor de p	0.0339	< 0.001	< 0.001	0.5904	0.3563
Ki67+*	0.3265	0.2386	0.4854	0.0335	0.2651
Valor de p	0.1601	0.3109	0.0301	0.8883	0.2587
PCR	0.2932	0.1869	-0.1203	-0.0275	0.0971
Valor de p	0.2096	0.4300	0.6134	0.9083	0.6840
IL-6	0.0960	0.2718	0.2715	-0.0798	0.1066
Valor de p	0.7048	0.2753	0.2758	0.7530	0.6738
Fibrinógeno	0.2597	0.2415	-0.0376	0.0648	0.0108
Valor de p	0.2689	0.3050	0.8749	0.7860	0.9640
Dímero D	0.4373	0.3793	0.1093	0.2017	0.3147
Valor de p	0.0539	0.0990	0.6465	0.3937	0.1766

*La correlación con los marcadores de activación inmune se midieron en cada subpoblación celular estudiada y la correlación estimada se realizó entre las células de cada subpoblación envejecida vs células con activación inmunológica de la misma subpoblación celular

El total de las células TCD8+ correlaciono con el logaritmo natural de la carga viral, la expresión de HLADR+ y la expresión simultanea de HLADR+ y CD38+. La evaluación por subgrupo de muestra que se pierde la correlación con todas las variables anteriormente descritas.

Figura 31. Las células TCD8+ envejecidas correlacionan con el logaritmo de la carga viral

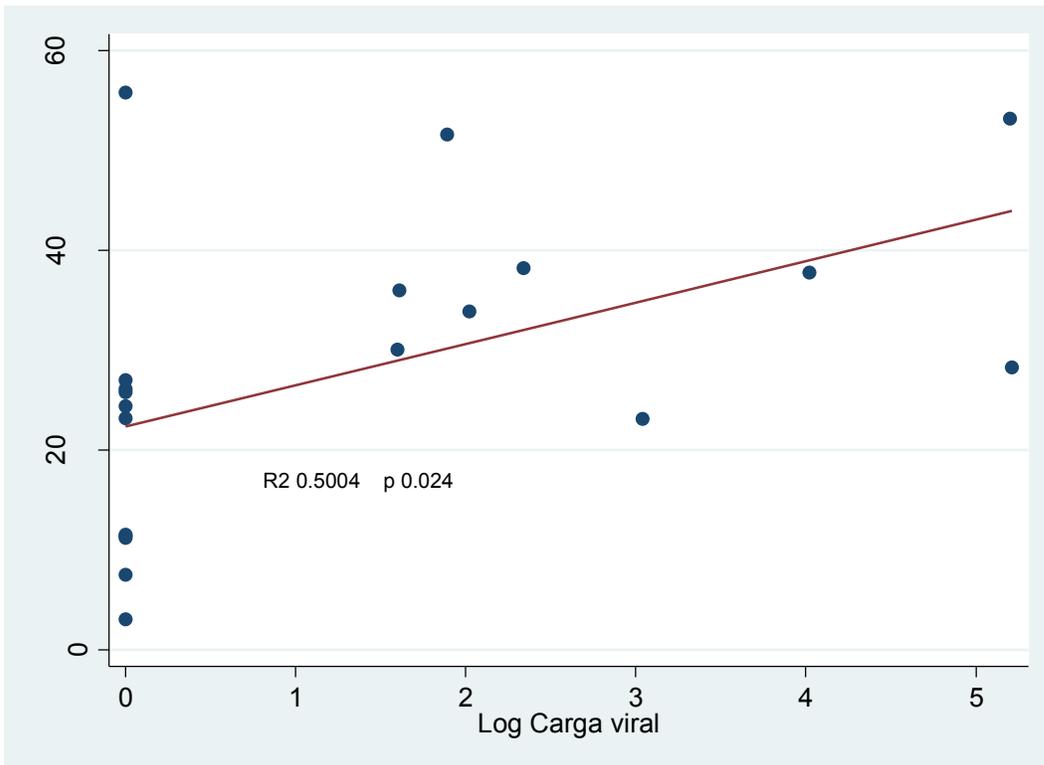


Figura 32. Hay ausencia de correlación entre las células TCD8+ envejecidas y el Log de la carga viral cuando se evalúa el grupo de sujetos viremicos

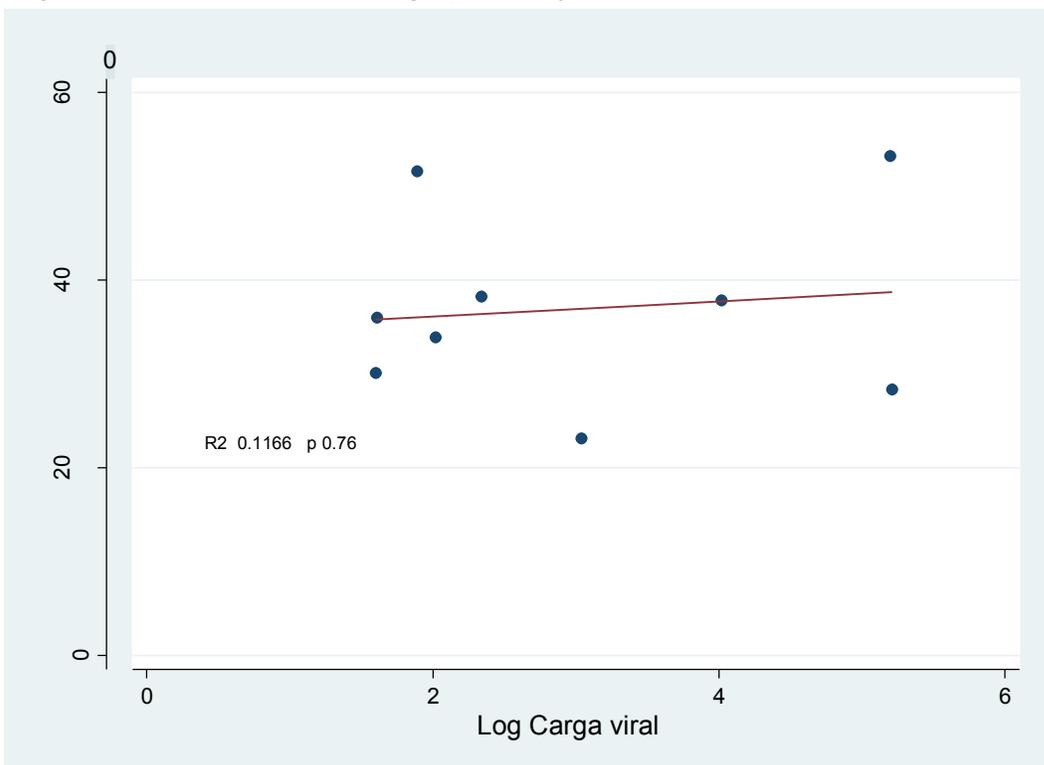


Figura 33. Las células TCD8+ envejecidas correlacionan con la expresión de HLADR+

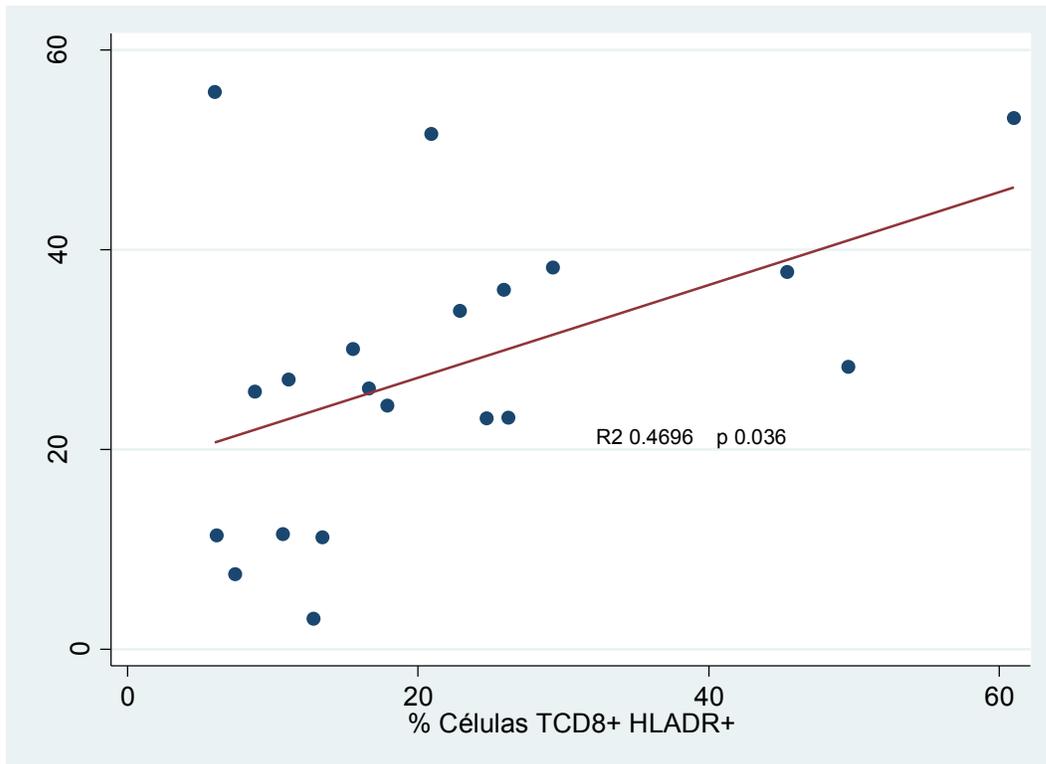


Figura 34. Ausencia de correlación entre células TCD8 envejecidas y HLADR en los subgrupos estudiados.

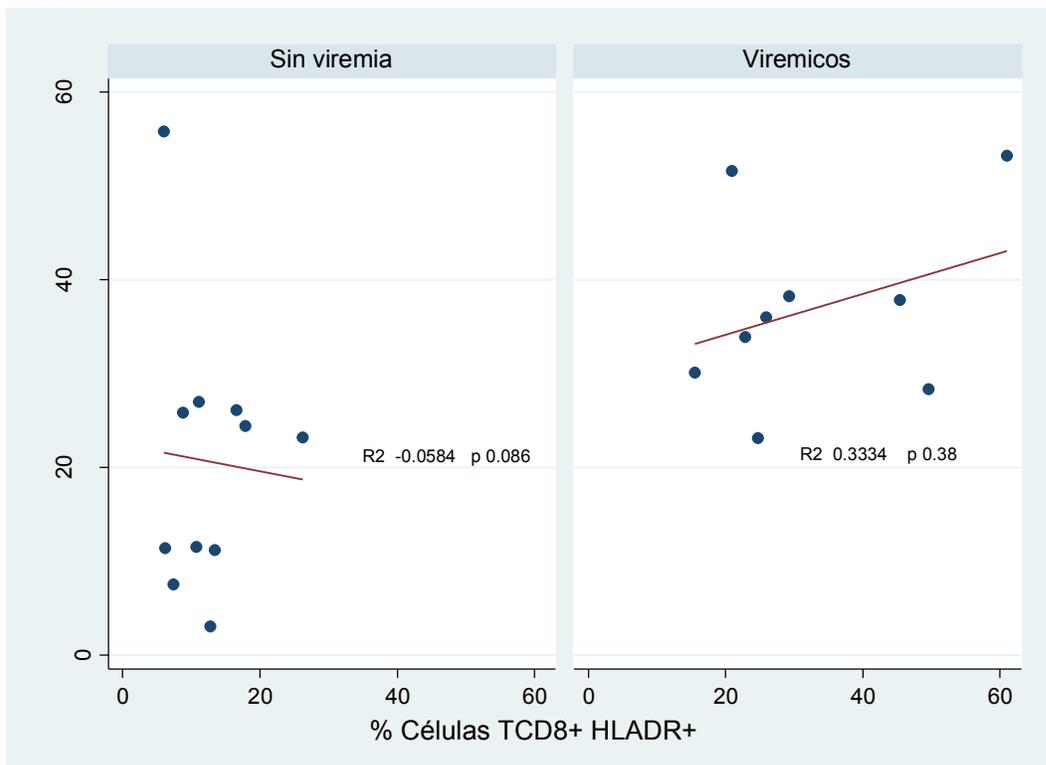


Figura 35. Las células TCD8+ envejecidas, correlacionan con la expresión de HLADR y CD38

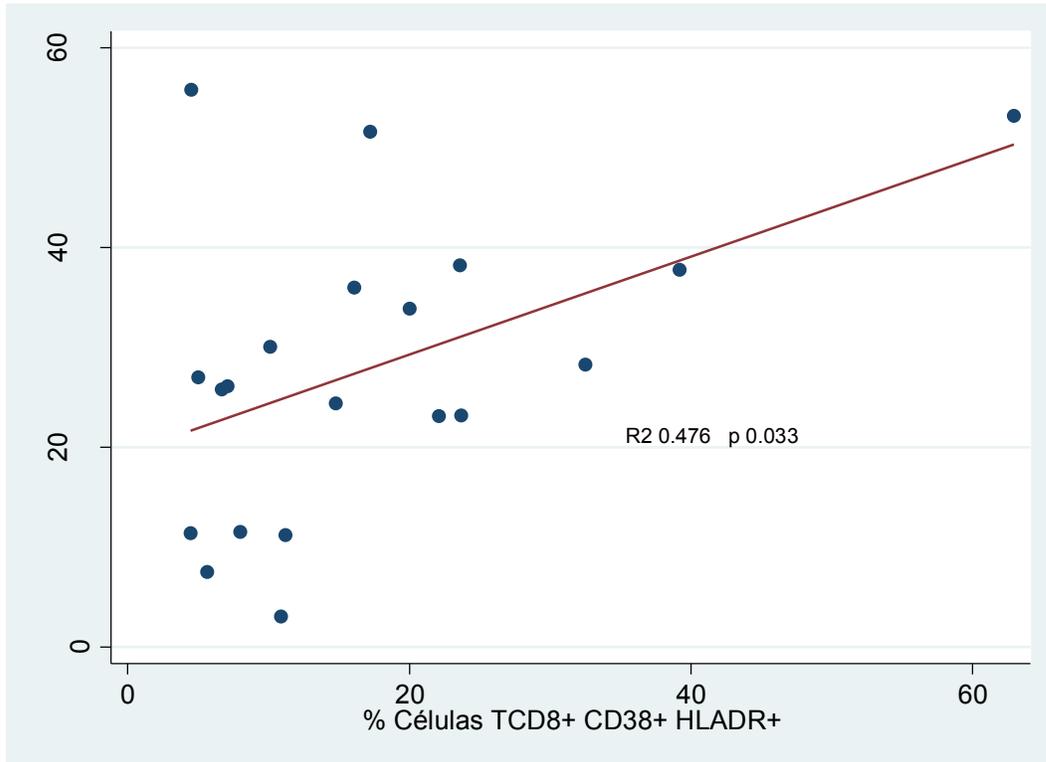
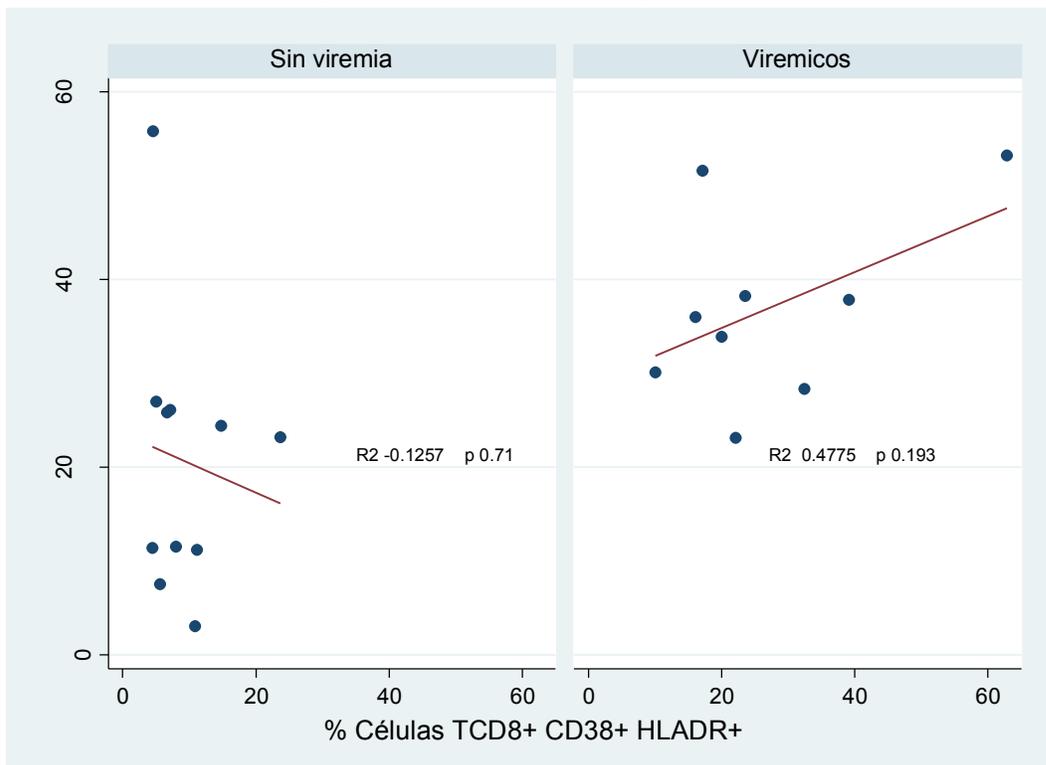


Figura 36. Ausencia de correlación entre células TCD8 envejecidas y la expresión concomitante de CD38+ y HLADR+ en los subgrupos estudiados.



En la subpoblación de células Vírgenes, hay correlación entre las células envejecidas y el Log de la carga viral, así como con la expresión del marcador HLADR+ y la expresión concomitante de HLADR+ y CD38+. Cuando se analizó por subgrupos se mantiene la correlación con HLADR+ y la expresión simultanea de HLADR+ y CD38+ en el grupo viremico, pero no hay correlación con el Log de la carga viral.

Figura 37. Las células TCD8+ vírgenes envejecidas, correlacionan con el Log de la carga viral

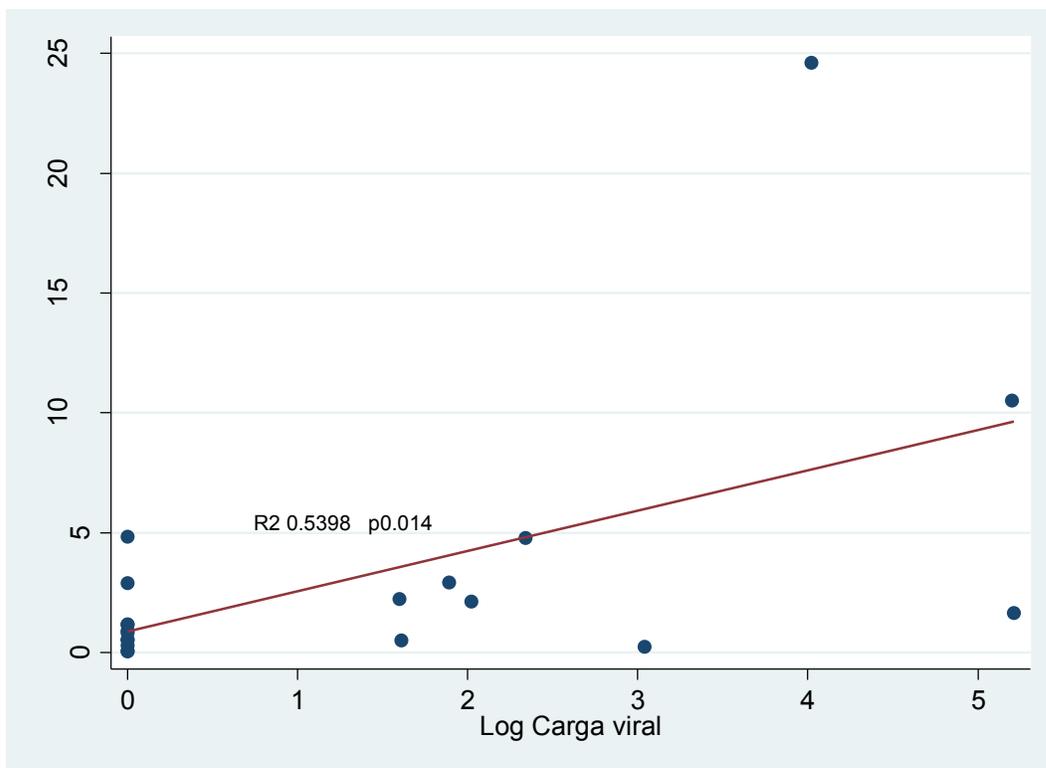


Figura 38. Hay ausencia de correlación entre las células TCD8+ vírgenes envejecidas y el Log de la carga viral cuando se evalúa el grupo de sujetos viremicos

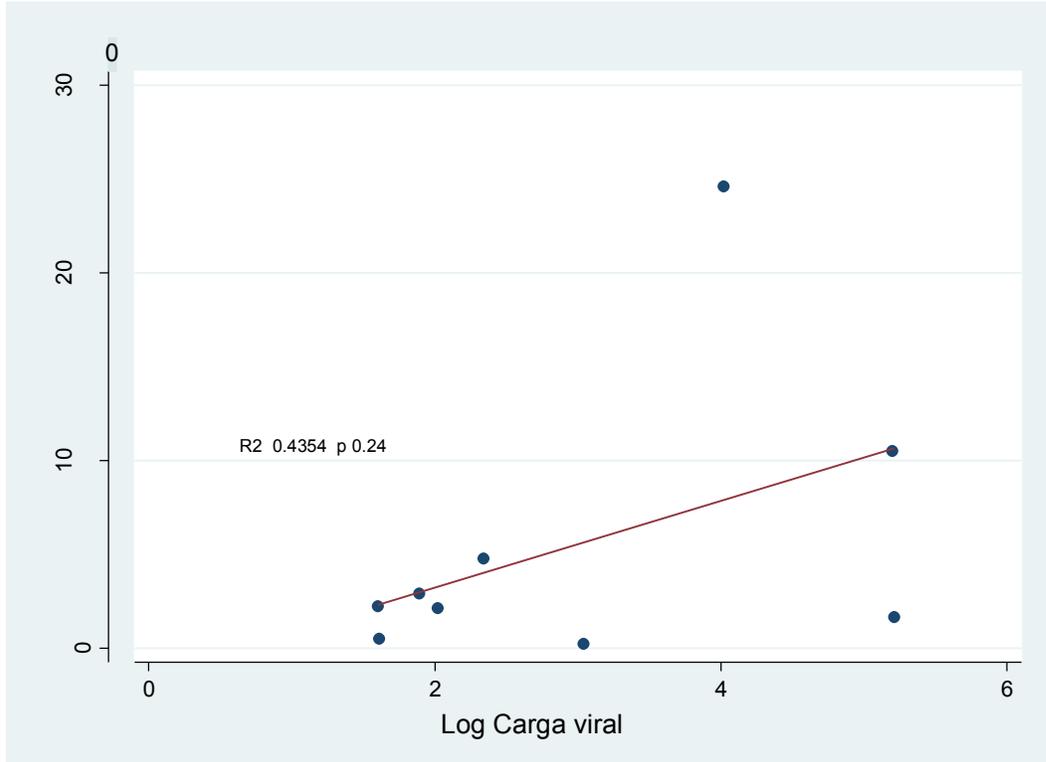


Figura 39. Las células TCD8+ vírgenes envejecidas, correlacionan con la expresión de HLADR

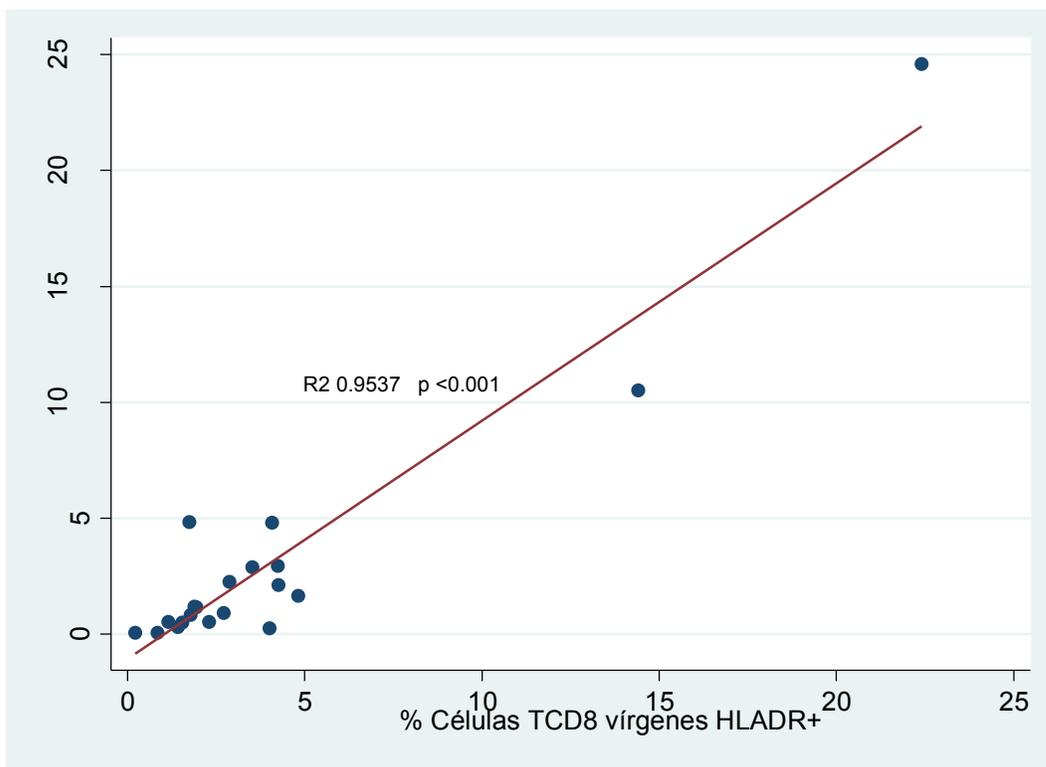


Figura 40. Las células TCD8+ vírgenes envejecidas, correlacionan con la expresión de HLADR solo en el grupo viremico

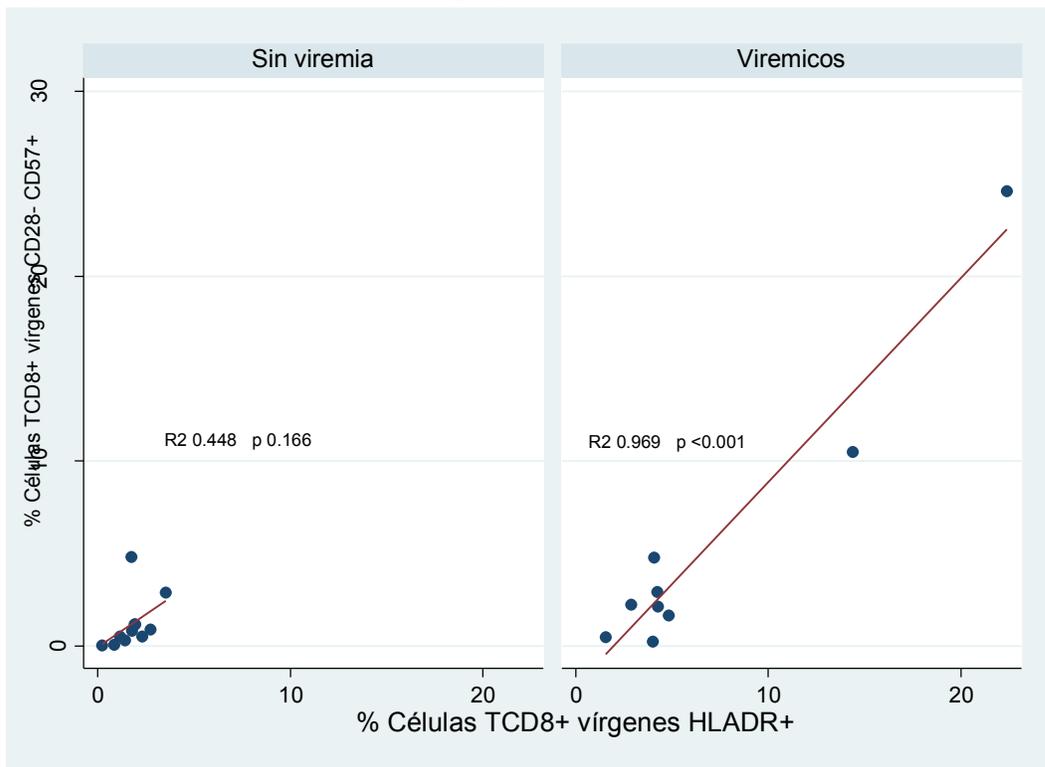


Figura 41. Las células TCD8+ vírgenes envejecidas, correlacionan con la expresión de HLADR y CD38

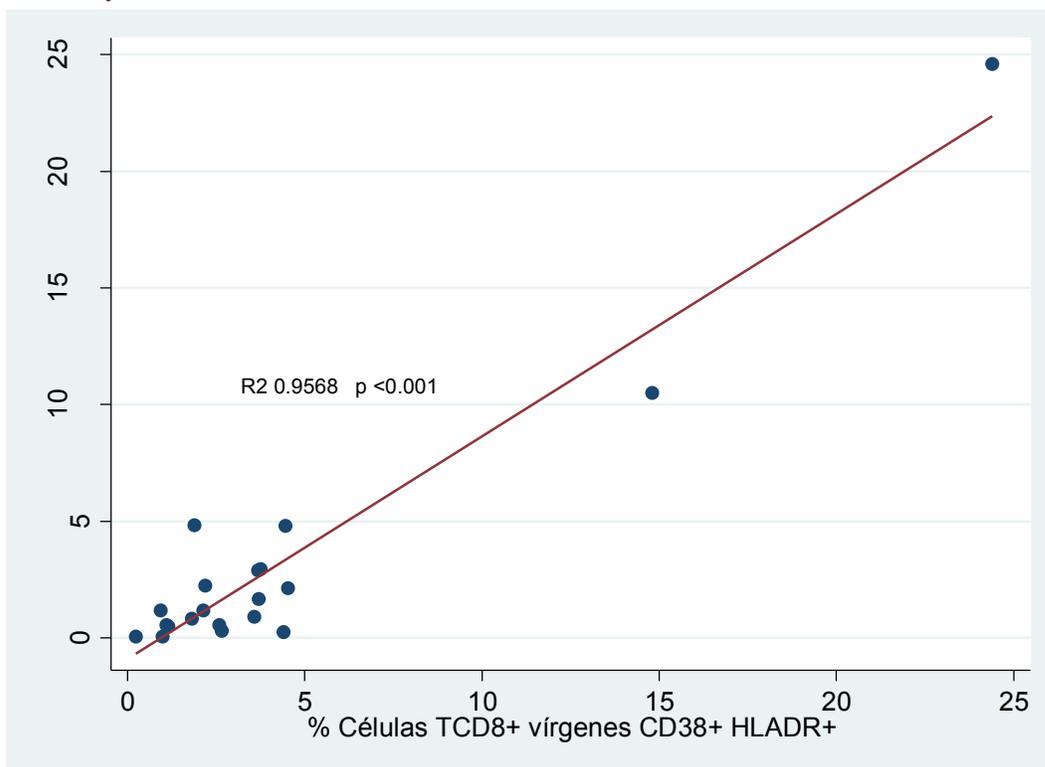
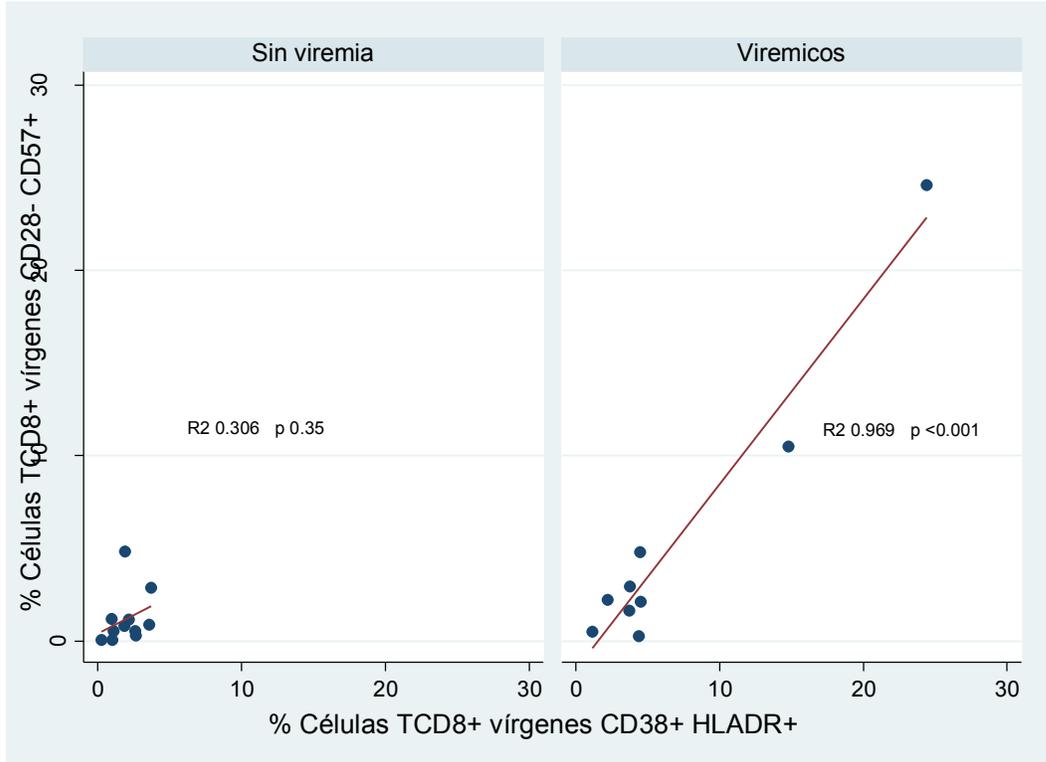


Figura 42. Las células TCD8+ vírgenes envejecidas, correlacionan con la expresión de HLADR y CD38, solo en el grupo viremico



Las células TCD8+ de memoria central, evidencian el mismo fenómeno, previamente descrito para la subpoblación de células vírgenes.

Figura 43. Las células TCD8 de memoria central correlacionan con el Log de la CV

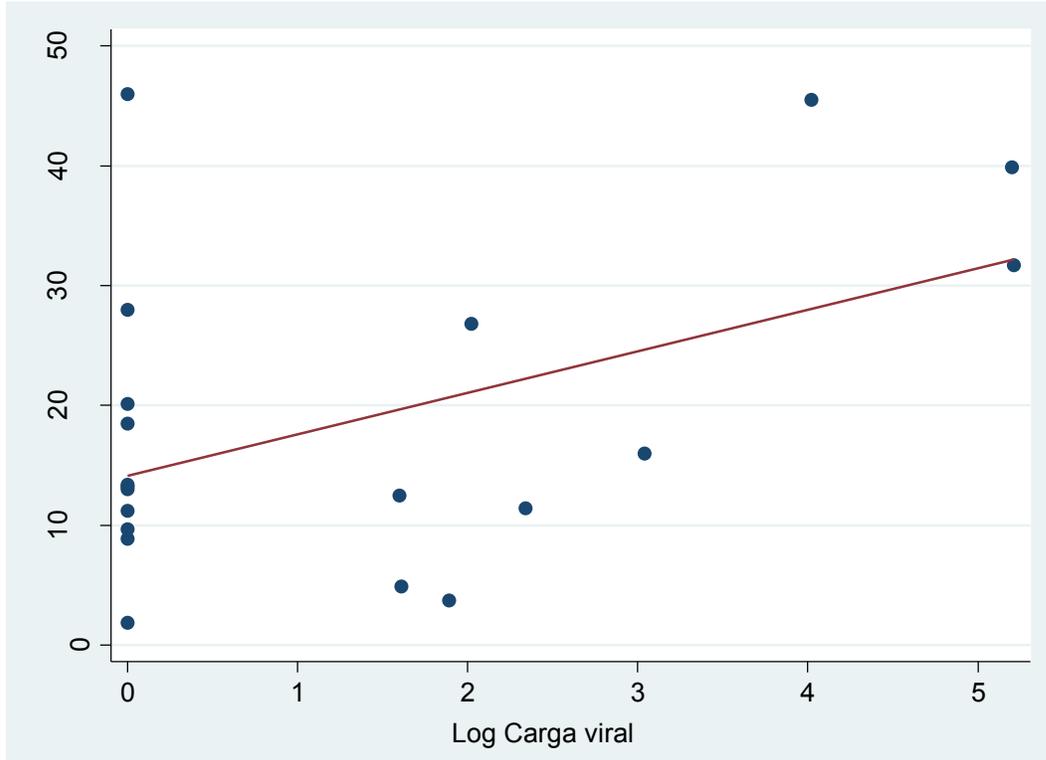


Figura 44. Las células TCD8+ de memoria central envejecidas correlacionan con el Log de la CV en el grupo viremico

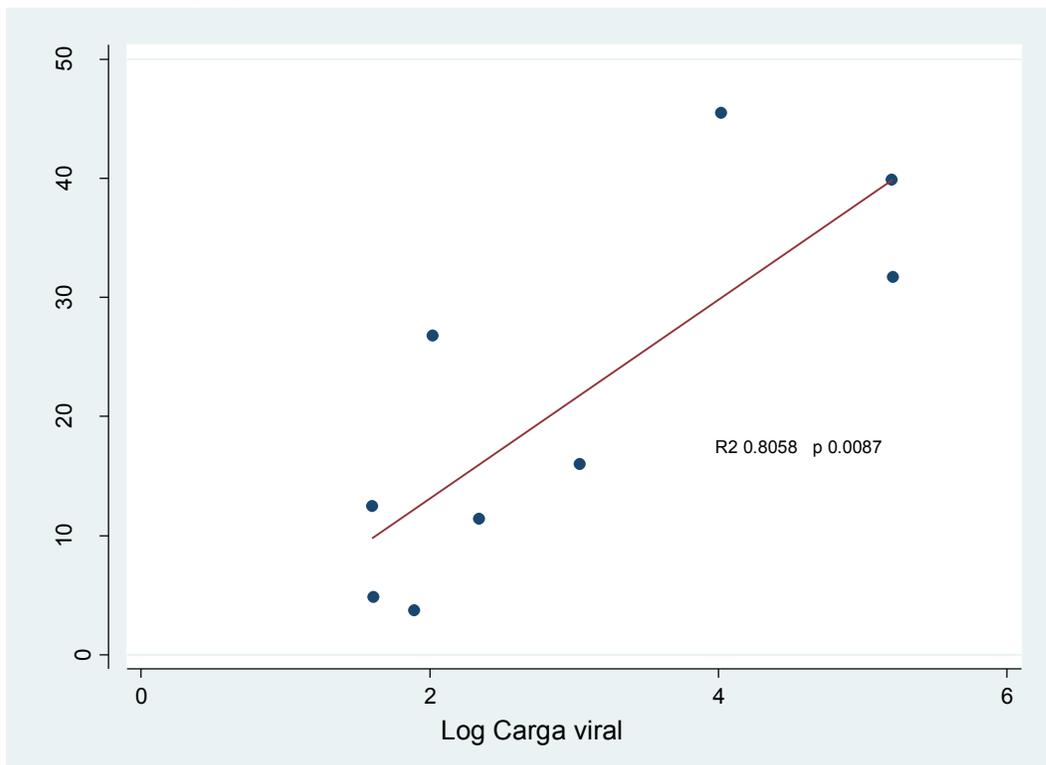


Figura 45. Las células TCD8+ de memoria central envejecidas correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLADR+

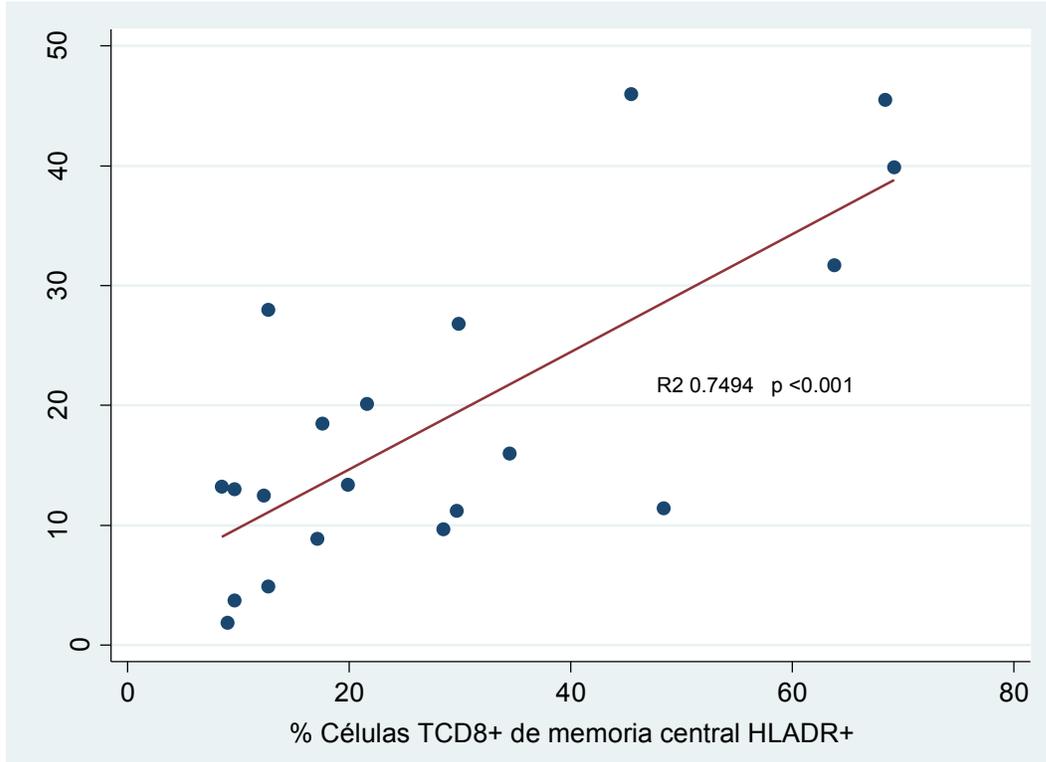


Figura 46. Las células TCD8+ de memoria central envejecidas correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLADR+ en ambos grupos

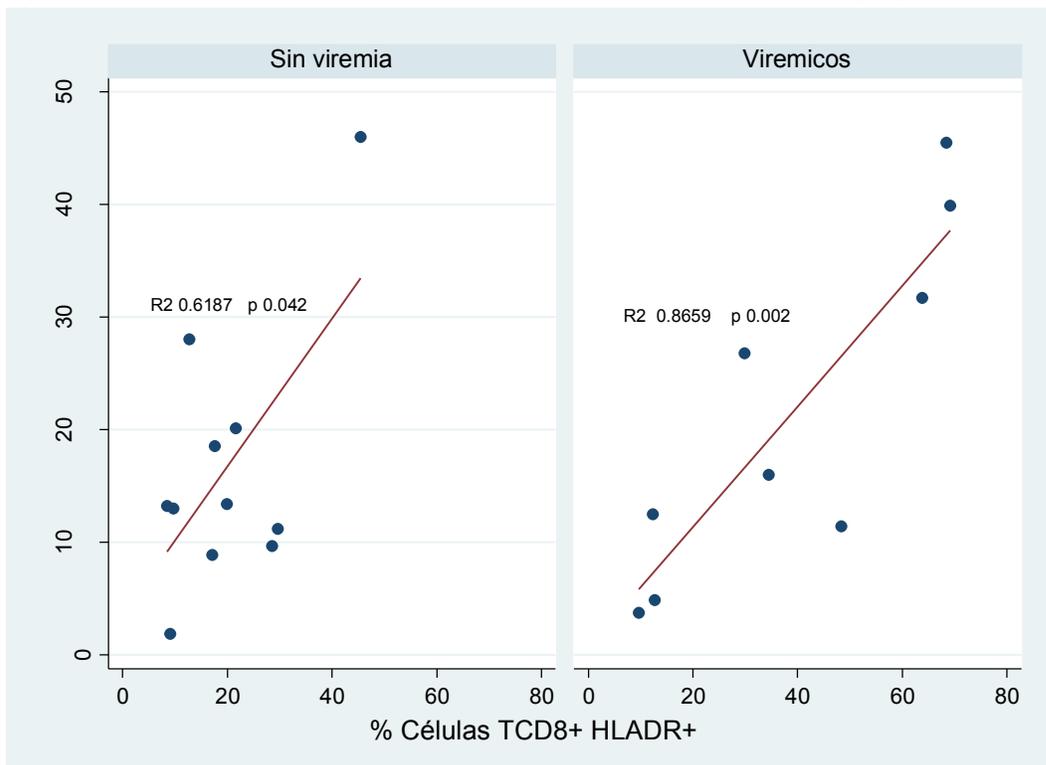


Figura 47. Las células TCD8+ de memoria central correlacionan con la expresión de HLADR+ y CD38+

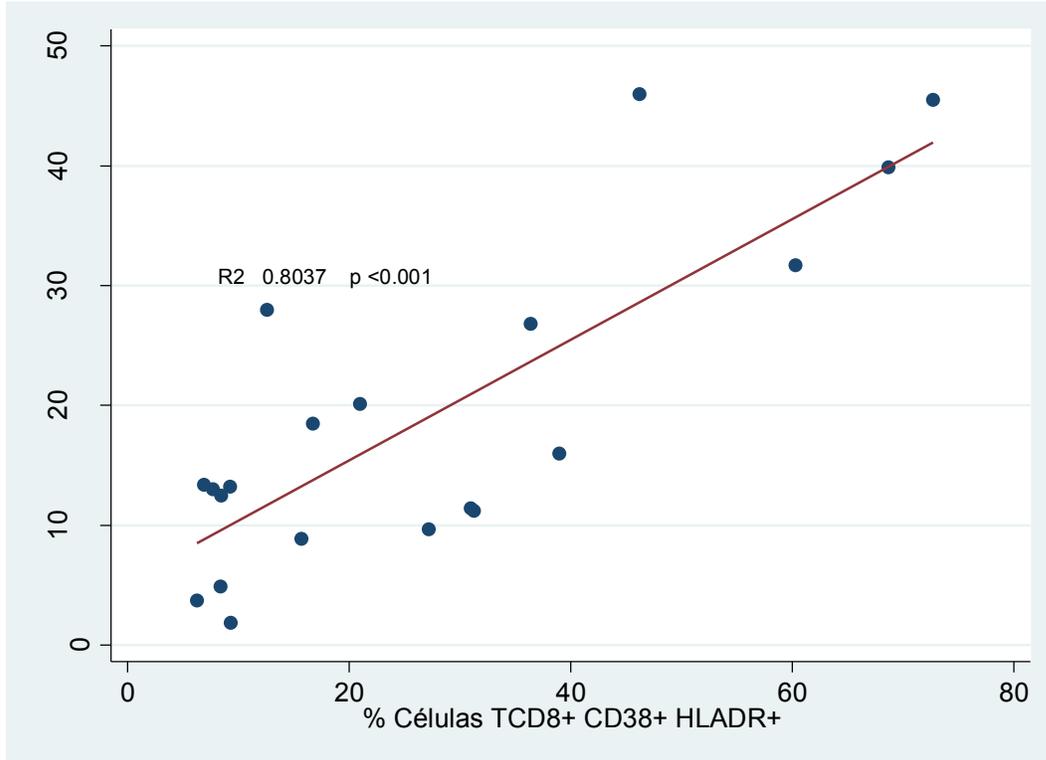


Figura 48. Las células TCD8+ de memoria central envejecidas de ambos grupos correlacionan con la expresión del marcador de activación inmune HLADR+ y CD38+

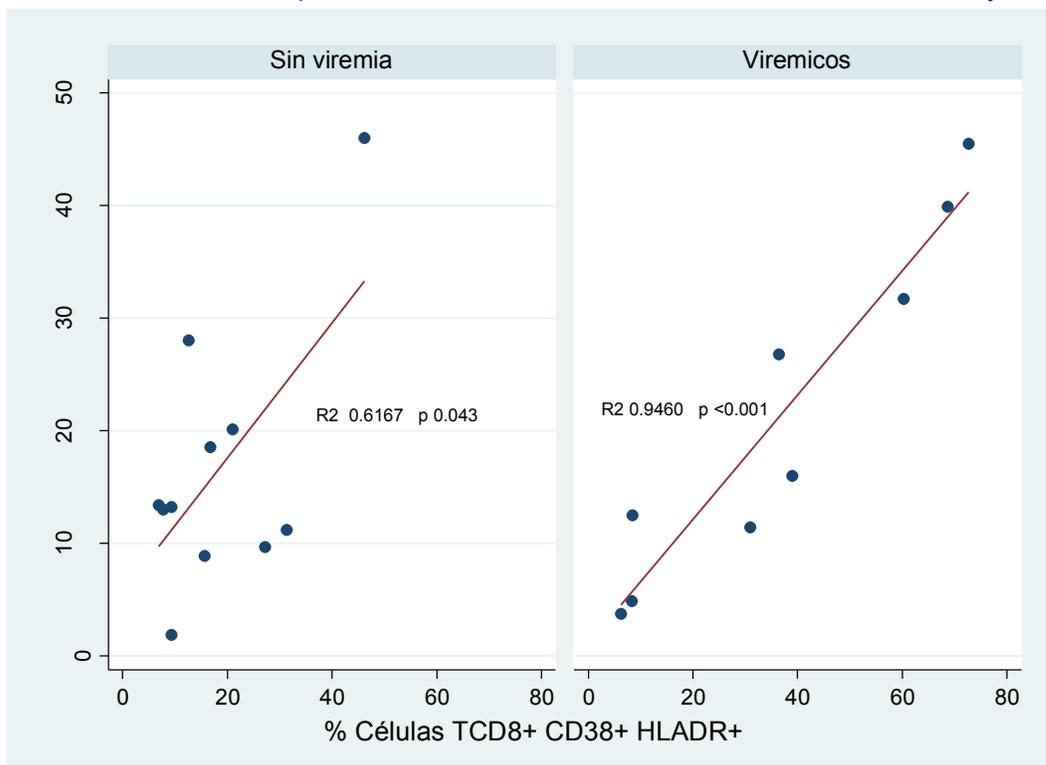
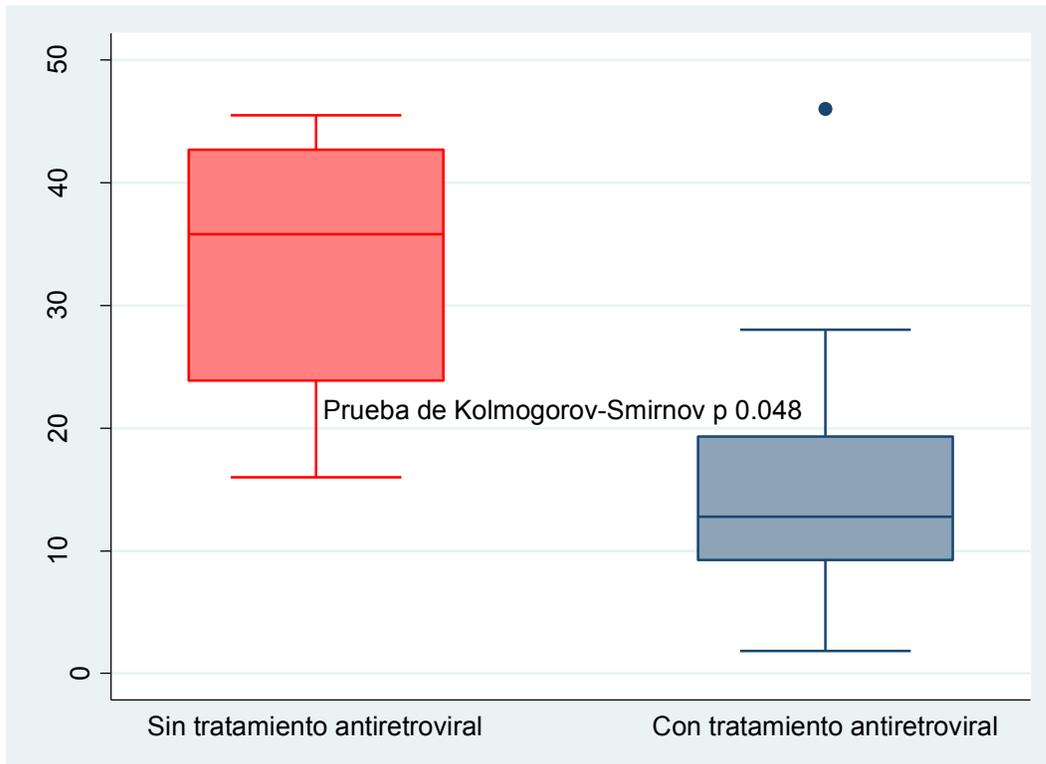


Figura 49. Los sujetos sin tratamiento antirretroviral, tienen mayor porcentaje de células TCD8+ de memoria central envejecidas



DISCUSION

Este estudio lo conceptualizamos en un inicio para evaluar el impacto de la viremia en el envejecimiento inmune y adicionalmente explorar variables que potencialmente podrían explicarlo. Aunque se ha evaluado ya el impacto de la viremia en la inmunosenescencia de las células T, (19,21) no se había medido el impacto de la activación inmunológica, que si bien puede haber activación inmunológica por la infección por VIH y hacer que haya una secuencia viremia- activación inmune- envejecimiento, también hay otras causas que pueden hacer que haya activación inmunológica como las infecciones crónicas(22) y la translocación de productos bacterianos a través de la barrera intestinal.(23)

Nuestra hipótesis establecía que la viremia tiene un papel trascendental en la inmunosenescencia de las células T, para esto comparamos la distribución de los sujetos viremicos y aviremicos de las diferentes subpoblaciones de las células T y en todas ellas el fenotipo predefinido de inmunosenescencia (CD28- CD57+). Al analizar las características basales de los grupos observamos que los sujetos viremicos eran más pequeños de edad, tenían menos tiempo de tratamiento y solo el 55% estaba en tratamiento anti-retroviral. Esto puede explicarse debido a que las políticas de tratamiento contemplaban 1) la edad del diagnóstico, 2) status inmunológico y 3) Carga viral. Dado que la edad de diagnóstico en lo general fue en mayores de 1 año, es esperado que se contemplara el status inmunológico y la carga viral para decidir comenzar el tratamiento anti-retroviral, posiblemente esto fue lo que paso y por esto al ir creciendo los niños comenzaron a bajar los linfocitos TCD4+ y tuvieron una indicación precisa para comenzar a tratarlos, posteriormente lograrían la supresión virológica. Esto es lo que regularmente pasaba en la práctica clínica, sin embargo, en adultos hay evidencia que el inicio de la terapia antiretroviral temprana reduce la morbilidad asociada y no asociada a VIH, así como la mortalidad general.(24) En niños se prescribe a todos los menores de 1 año debido a la repercusión en el neurodesarrollo, sin embargo, con base en el estudio STARD(24) las nuevas guías de tratamiento de VIH en niños de México(25) y EUA(26) ya recomiendan el inicio del tratamiento en todos los niños independientemente de su sintomatología, cuenta de células TCD4+ y carga viral. Estos cambios a las políticas de tratamiento deberán ser estudiadas tanto en la morbilidad como en la mortalidad de los niños con VIH, incluso ahora que lo esperado es que caiga aún más la mortalidad, es sumamente importante evaluar las repercusiones en sistema óseo, cardiovascular e inmunológico en diversos aspectos.

Nuestro grupo de pacientes fue de menor edad que el estudiado por Díaz y Mendez-Lagares(19,21) y mayor que el estudiado por Gianesin (23). A excepción de un niño todos estaban bajo tratamiento anti-retroviral en los estudios de Díaz y Mendez-Lagares(19,21) mientras que en el estudio de Gianesin el 30% estaba sin tratamiento, lo cual lo hace un grupo un poco más parecido al que estudiamos.

Una de las primeras aproximaciones fue evaluar la correlación entre las células senescentes TCD4+, TCD8+, subpoblaciones de cada una de ellas y la edad, interesantemente no hubo correlación en ninguna población o subpoblación de células T con la edad, previamente ya se había reportado la ausencia de correlación entre la edad y células TCD8+ vírgenes en niños con VIH.(19) La siguiente aproximación fueron las variables dicotómicas, encontrando que las mujeres tienen mayor proporción de células TCD4+ senescentes, a este hallazgo no encontramos alguna explicación biológica por el momento y deberá de ser motivo de análisis en estudios posteriores. El grupo de sujetos viremicos tiene una mayor proporción de células TCD4+ vírgenes envejecidas, este hallazgo no había sido reportado previamente, Mendez-Lagares(21) estudio la inmunosenescencia de las células TCD4+ en niños con VIH, estudio 57 niños con VIH (25 viremicos) y 32 sin VIH, describió envejecimiento prematuro de las células TCD4+ y sus subpoblaciones en los niños con VIH, pero no encontró asociación con la viremia. Posteriormente evaluamos la correlación entre el Log de la carga viral y el porcentaje de células TCD4+ vírgenes envejecidas, encontrando que, aunque hay una correlación positiva estadísticamente significativa, al ver la gráfica con detalle, son los sujetos aviremicos los que están haciendo que haya una correlación ficticia, esto se demuestra al evaluar por separado al grupo viremico. Este hecho hace que se ponga en duda la hipótesis sobre el efecto de la viremia en el envejecimiento inmunológico, por este motivo evaluamos posibles explicaciones al fenómeno de la inmunosenescencia como son la activación inmunológica y marcadores solubles de inflamación. En el caso de las células TCD4+ vírgenes, se encontró una correlación positiva entre la activación inmunológica y la inmunosenescencia, incluso cuando se evaluó por separado a los grupos viremicos y aviremicos.

En nuestro estudio no evaluamos otros factores que favorezcan la activación inmunológica, se sabe que la translocación de productos bacterianos a partir del intestino favorece la activación inmune. En el estudio de Gianesin(23) sCD14 fue correlacionado positivamente con la expresión de HLADR+ CD38+ en células TCD8, pero no con células TCD8+

envejecidas, los autores consideraron que las translocación de productos bacterianos no ocasionan en forma directa el envejecimiento inmunológico, pero si favorece la activación inmune y esto a su vez favorece el envejecimiento.

Por otra parte, encontramos datos que previamente no habían sido reportados como por ejemplo, las células TCD4+ de memoria envejecidas correlacionaron con el Log de la carga viral y persiste esta correlación en el análisis por subgrupos, sugiriendo que al menos en el compartimento de las células TCD4+ la viremia si tiene alguna participación en la génesis del envejecimiento replicativo, además que solo el grupo viremico correlaciona en forma positiva con la activación inmune. Las células TCD4+ de memoria efectoras y TemRA correlacionan con la activación inmunológica solo en el grupo viremico. La correlación que encontramos entre la inmunosenescencia y la activación inmune en el grupo viremico sugieren que hay una secuencia viremia-activación inmune-inmunosenescencia, sin embargó nuestro estudio no alcanza a evaluar otros factores que pueden favorecer la activación inmune. Debido a que nuestro estudio estaba diseñado para encontrar diferencias en el porcentaje de las células TCD8+ vírgenes envejecidas al dividir a los sujetos entre virmicos y avirmicos, la muestra termino siendo pequeña para poder ajustar un modelo de regresión logística y poder determinar mejor, el impacto que tiene la activación inmune y la viremia en la génesis de la inmunosenescencia.

Con respecto al compartimento de las células TCD8+, Díaz reporto diferencias solo en las células TCD8+ vírgenes,(19) nuestro estudio es el primero que encuentra diferencias del porcentaje de células envejecidas TCD8+, TCD8+ vírgenes y TCD8+ de memoria entre los sujetos virmicos y avirmicos, resaltando la importancia de mantener una carga viral indetectable en la atención clínica a los niños con VIH. También es el primero en evaluar la correlación entre la carga viral y el fenotipo de inmunosenescencia, en este sentido es sumamente interesante como en el análisis bivariado se encuentran diferencias, sin embargo, al hacer una evaluación con variables continuas, no hay correlación del Log de la carga viral con el fenotipo de envejecimiento de las células TCD8+, y si lo hay en las células TCD8+ vírgenes y TCD8+ de memoria. Este fenómeno junto con la correlación positiva que hay con la activación inmunológica sugiere que la activación inmunológica posiblemente impacte más que la viremia en el fenotipo de envejecimiento inmune. Desde el punto de vista fisiopatológico, es esperado que el hecho de tener un estímulo antigénico persistente ocasione la expansión clonal y que las células T en lo general se comiencen a diferenciar

hasta llegar a un estadio avanzado, con el fenotipo de envejecimiento CD28- CD57+, con todas las potenciales consecuencias de eventos no relacionados a SIDA.(5,20)

Dado que nuestro grupo de sujetos viremicos es más joven que el aviremico, consideramos que el envejecimiento inmune en niños con VIH, es más dramático que lo reportado en adultos y reviste mayor importancia entender este fenómeno, incluyendo el papel de la activación inmunológica y sus posibles consecuencias a largo plazo. Ganesin (23) demostró que hay envejecimiento biológico acelerado en niños infectados por VIH al compararse con niños expuestos perinatalmente y niños sin VIH. Además, demostró la correlación entre el acortamiento de los telómeros con las células TCD8+ envejecidas, cansadas y activadas en los niños con VIH, sin embargo, no evaluó el impacto de la carga viral en el cansancio, activación o envejecimiento inmunológico.

Ahora que se han cambiado las políticas de tratamiento antirretroviral en niños, se debe de evaluar su impacto en el cansancio o envejecimiento del sistema inmunológico, dado que ahora lo esperado es ver más niños aviremicos, y se debe de incluir otros factores que favorecen la activación y envejecimiento inmunológico como la infección por CMV, aunque en México la seroprevalencia es de hasta 70.1% (64.0–76.1) en niños de 1 a 9 años (no se han realizado estimaciones por grupos de edad más pequeños)(27) así como la translocación de productos bacterianos y otras infecciones crónicas. Otros fenómenos por explorar es la carga viral a través del tiempo y su asociación con el envejecimiento inmune, todos los estudios de este tópico son transversales, por lo que solo estamos observando una fotografía de la carga viral, sin embargo, no estamos evaluando el historial de la carga viral de cada individuo y como le ha impactado en el envejecimiento inmunológico, por lo que un estudio diseñado para evaluar todos estos tópicos con una muestra adecuada para evaluar confusores sería idóneo.

Conclusiones

Si hay envejecimiento inmune prematuro en las células TCD4+

La activación inmunológica posiblemente impacte más en el fenotipo de envejecimiento inmune que la viremia.

El sexo es una variable que se deberá de seguir estudiando ya que previamente no estaba reportada como asociada al fenotipo de envejecimiento inmune.

Se requiere de ampliar la muestra.

Debemos explorar otros factores que favorezcan la activación inmune en niños con VIH.

Referencias

1. Luzuriaga K, Mofenson LM. Challenges in the Elimination of Pediatric HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2016;374(8):761–70.
2. UNAIDS. By the Numbers [Internet]. Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/AIDS-by-the-numbers-2016_en.pdf
3. Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA). VIH y SIDA en México 2012. Secretaría de Salud. 2012.
4. JA L. No Title. In: Levy JA, editor. *El VIH y la patogénesis del SIDA*. México: Fondo de Cultura Económica; 2008.
5. Cao W, Jamieson BD, Hultin LE, Hultin PM, Effros RB, Detels R. Premature Aging of T cells Is Associated With Faster HIV-1 Disease Progression. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;50(2):137–47.
6. Bonyhadi ML, Rabin L, Salimi S, Brown DA, Kosek J, McCune JM, et al. HIV induces thymus depletion in vivo. *Nature*. 1993;363(6431):728–32.
7. The Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet*. 2008;372(9635):293–9.
8. Bhaskaran K, Hamouda O, Sannes M, Boufassa F, Johnson AM, Lambert PC, et al. Changes in the risk of death after HIV seroconversion compared with mortality in the general population. *JAMA*. 2008;300(1):51–9.
9. Lohse N, Hansen ABE, Pedersen G, Kronborg G, Gerstoft J, Sørensen HT, et al. Survival of persons with and without HIV infection in Denmark, 1995-2005. *Ann Intern Med*. 2007;146(2):87–95.
10. Kalayjian RC, Landay A, Pollard RB, Taub DD, Gross BH, Francis IR, et al. Age-related immune dysfunction in health and in human immunodeficiency virus (HIV) disease: association of age and HIV infection with naive CD8⁺ cell depletion, reduced expression of CD28 on CD8⁺ cells, and reduced thymic volumes. *J Infect Dis*. 2003;187(12):1924–33.
11. Appay V, Almeida JR, Sauce D, Autran B, Papagno L. Accelerated immune senescence and HIV-1 infection. Vol. 42, *Experimental Gerontology*. 2007. p. 432–7.
12. Desai S, Landay A. Early immune senescence in HIV disease. Vol. 7, *Current HIV/AIDS Reports*. 2010. p. 4–10.
13. Trzonkowski P, Myśliwska J, Szmit E, Więckiewicz J, Łukaszuk K, Brydak LB, et al. Association between cytomegalovirus infection, enhanced proinflammatory response and low level of anti-hemagglutinins during the anti-influenza vaccination - An impact of immunosenescence. *Vaccine*. 2003;21(25–26):3826–36.
14. Hadrup SR, Strindhall J, Køllgaard T, Seremet T, Johansson B, Pawelec G, et al. Longitudinal studies of clonally expanded CD8 T cells reveal a repertoire shrinkage predicting mortality and an increased number of dysfunctional cytomegalovirus-specific T cells in the very elderly. *J Immunol*. 2006;176(4):2645–53.
15. Wang GC, Kao WHL, Murakami P, Xue Q-L, Chiou RB, Detrick B, et al. Cytomegalovirus infection and the risk of mortality and frailty in older women: a

- prospective observational cohort study. *Am J Epidemiol.* 2010;171(10):1144–52.
16. Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, Duperrier A, Keller M, Grubeck-Loebenstein B, et al. Evidence of premature immune aging in patients thymectomized during early childhood. *J Clin Invest.* 2009;119(10):3070–8.
 17. Mansoor N, Abel B, Scriba TJ, Hughes J, de Kock M, Tameris M, et al. Significantly skewed memory CD8⁺ T cell subsets in HIV-1 infected infants during the first year of life. *Clin Immunol.* 2009;130(3):280–9.
 18. Sharp ER, Willberg CB, Kuebler PJ, Abadi J, Fennelly GJ, Dobroszycki J, et al. Association of differentiation state of CD4⁺ T cells and disease progression in HIV-1 perinatally infected children. *PLoS One.* 2012;7(1).
 19. Diaz L, Mendez-Lagares G, Correa-Rocha R, Pacheco YM, Ferrando-Martinez S, Ruiz-Mateos E, et al. Detectable viral load aggravates immunosenescence features of CD8 T-cell subsets in vertically HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;60(5):447–54.
 20. Unemori P, Hunt P, Leslie K, Sinclair E, Martin J, Deeks S, et al. T cell immunosenescence is associated with the presence of Kaposi's sarcoma in antiretroviral treated human immunodeficiency virus-infected persons. *Infect Agent Cancer.* 2010;5(Suppl 1):A74.
 21. Méndez-Lagares G, Díaz L, Correa-Rocha R, León Leal JA, Ferrando-Martínez S, Ruiz-Mateos E, et al. Specific patterns of CD4-associated immunosenescence in vertically HIV-infected subjects. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(6):558–65.
 22. Le Saux S, Weyand CM, Goronzy JJ. Mechanisms of immunosenescence: Lessons from models of accelerated immune aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1247(1):69–82.
 23. Gianesin K, Noguera-Julian A, Zanchetta M, Del Bianco P, Petrara MR, Freguja R, et al. Premature aging and immune senescence in HIV-infected children. *Aids.* 2016;(February 2015):1.
 24. The INSIGHT START Study Group. *NEJM.* 2015;373(9):795–807.
 25. Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA). *Guía de manejo antiretroviral de las personas con VIH.* Secr Salud. 2016;
 26. Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents Developed by the HHS Panel on Antiretroviral Guidelines for.* October. 2012;
 27. Conde-glez C, Lazcano-ponce E, Rojas R, Deantonio R, Romano-mazzotti L, Cervantes Y, et al. Seroprevalences of varicella-zoster virus, herpes simplex virus and cytomegalovirus in a cross-sectional study in Mexico. *Vaccine [Internet].* 2013;31(44):5067–74.