

# Factores inmunológicos relacionados con VIH-1 en pacientes colombianos

Immunological Factors Related to HIV-1 in Colombian Patients

Fatores imunológicos relacionados com HIV-1 em pacientes colombianos

Damariz Marín-Palma, MSc;<sup>1</sup>

Jaiberth A. Cardona-Arias, MSc;<sup>2</sup>

Juan Carlos Hernández, Sci Doc<sup>3\*</sup>

**Recibido:** 10 de septiembre de 2018 - **Aceptado:** 9 de abril de 2019

**Doi:** <http://dx.doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.7927>

**Para citar este artículo:** Marín-Palma D, Cardona-Arias JA, Hernández JC. Factores inmunológicos relacionados con VIH-1 en pacientes colombianos. Rev Cienc Salud. 2019;17(2):245-58. Doi: <http://dx.doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.7927>

## Resumen

**Introducción:** los inflamomas dirigen la maduración de las citoquinas IL-1b e IL-18, las cuales contribuyen en la patogénesis de la infección por VIH-1. Dada la complejidad de la infección, se hace necesaria la búsqueda de marcadores que permitan identificar nuevos blancos terapéuticos o hacer seguimiento del estado inmunológico de los pacientes. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue explorar el efecto independiente de los principales componentes inflamatorios sobre la infección por VIH-1. **Materiales y métodos:** estudio analítico con 36 pacientes VIH+ y 36 controles sanos, pareados por edad y sexo. Se cuantificó la carga viral, los linfocitos T CD4+/CD8+, el perfil lipídico, la proteína C reactiva y las concentraciones séricas de IL-1β, IL-6 e IL-18. El mRNA de los genes relacionados con los inflamomas fue cuantificado por RT-PCR en tiempo real. El análisis estadístico se basó en medidas de resumen, pruebas de hipótesis y regresión logística binaria multivariante. **Resultados:** se encontraron menores valores de HDL y mRNA IL-18 y mayores de mRNA NLRP1 y mRNA ASC en los pacientes con VIH-1, comparados con los controles. Los valores de HDL y mRNA IL-18 se correlacionaron con los recuentos de linfocitos. En el análisis multivariado se encontró que la relación CD4/CD8, el mRNA IL-18 y el mRNA ASC pueden constituir las principales variables que tienen un potencial explicativo sobre la infección por VIH-1 en la población de estudio. **Conclusión:** se evidenció la importancia de estudiar los inflamomas,

1 Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia.

2 Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia.

3 Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia.

\* Autor de correspondencia: [juankhernandez@gmail.com](mailto:juankhernandez@gmail.com)

dado que en la población de estudio constituyen potenciales blancos terapéuticos para disminuir la respuesta inflamatoria.

*Palabras clave:* VIH-1, inflamación, análisis multivariado, inflamomas, relación CD4/CD8.

## Abstract

*Introduction:* Inflammasomes direct the maturation of the cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18, which contribute to the pathogenesis of HIV-1 infection. Given its complexity, it is necessary to search for markers that can identify new therapeutic targets or monitor the immunological status of patients. Therefore, the objective of the present work was to explore the independent effect of the main inflammatory components on HIV-1 infection. *Materials and Methods:* Researchers conducted an analytical study with 36 HIV+ patients and 36 healthy controls, matched by age and sex. Viral load, CD4+/CD8+ T lymphocytes, lipid profile, C-reactive protein and serum concentrations of IL-1 $\beta$ , IL-6, and IL-18 were quantified. RT-PCR in real time quantified the mRNA of the genes related to the inflammasomes. The statistical analysis based on summary measures, hypothesis tests, and multivariate binary logistic regression. *Results:* Lower values of HDL and mRNA IL-18 and higher mRNA NLRP1 and mRNA ASC presented in patients with HIV-1 compared with controls. The values of HDL and mRNA IL-18 correlated with lymphocyte counts. The multivariate analysis shows that the CD4 / CD8 ratio, the IL-18 mRNA and the ASC mRNA can be the main variables that have an explanatory potential on HIV-1 infection in the study population. *Conclusion:* The importance of studying inflammasomes was evidenced, given that in the study population they are potential therapeutic targets to reduce the inflammatory response.

*Keywords:* HIV-1, inflammation, multivariate analysis, inflammasomes, CD4/CD8 ratio.

## Resumo

*Introdução:* os inflamassomas dirigem a maturação das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-18; as quais contribuem nas patogêneses da infecção por HIV-1. Dada a complexidade da infecção se faz necessária a busca de marcadores que permitam identificar novos alvos terapêuticos ou fazer seguimento do estado imunológico dos pacientes. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi explorar o efeito independente os principais componentes inflamatórios sobre a infecção por HIV-1. *Materiais e métodos:* estudo analítico com 36 pacientes HIV+ e 36 controles saudáveis, pareados por idade e sexo. Se quantificou a carga viral, os linfócitos T CD4+/CD8+, o perfil lipídico, a proteína C reativa e as concentrações séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-18. O mRNA dos genes relacionados com os inflamassomas foi quantificado por RT-PCR em tempo real. A análise estatística se baseou em medidas de resumo, provas de hipótese e regressão logística binária multivariado. *Resultados:* se encontraram menores valores de HDL e mRNA IL-18 e maiores de mRNA NLRP1 e mRNA ASC nos pacientes com HIV-1, comparados com os controles. Os valores de HDL e mRNA IL-18 se correlacionaram com os recontos de linfócitos. Na análise multivariada encontrou-se que a relação CD4/CD8, o mRNA IL-18 e o mRNA ASC podem constituir as principais variáveis que têm um potencial explicativo sobre a infecção por HIV-1 na população de estudo. *Conclusão:* se evidenciou a importância de estudar os inflamassomas, dado que na população de estudo constituem potenciais blancos terapéuticos para diminuir a resposta inflamatória.

*Palavras-chave:* HIV-1, inflamação, análise multivariada, inflamassomas, relação CD4/CD8.

## Introducción

Los inflammasomas son complejos multiproteicos ensamblados en el citosol que participan en la maduración de citoquinas proinflamatorias de la familia de la IL-1 (1). Estos complejos son el producto del ensamblaje de una molécula sensora, como los receptores NLR, una proteína adaptadora denominada ASC y la forma inactiva de la caspasa-1, que al ser reclutada se activa por autocatálisis y lleva a cabo la maduración proteolítica de las formas inactivas de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  e IL-18, las cuales contribuyen con el proceso inflamatorio (2).

Si bien una respuesta inflamatoria adecuada es requerida para el control y eliminación del agente o patógeno que esté causando una lesión, cuando sus mecanismos reguladores se alteran puede convertirse en un evento patogénico y generar daño en los tejidos blancos. De hecho, se han descrito diferentes enfermedades e infecciones en las cuales se presenta un aumento en la expresión y actividad de los inflammasomas, relacionado con un proceso inflamatorio exacerbado (3). Entre estas, el síndrome autoinflamatorio familiar, inducido por el frío, es una evidencia directa de la importancia del correcto funcionamiento de estos complejos (4). Asimismo, se ha descrito que el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) tiene la capacidad de inducir la activación del inflammasoma NLRP3 y una mayor producción de IL-1 $\beta$  (5).

En este orden de ideas, se ha descrito la hiperactivación inmune como el principal mecanismo patogénico de la infección por el VIH-1, esta cursa con un proceso inflamatorio persistente que, a largo plazo, genera un agotamiento inmune, pérdida del control de la infección y progreso al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (Sida) (6, 7). En concordancia con esto, se ha descrito que diferentes citoquinas y marcadores proinflamatorios se encuentran en niveles más altos en los pacientes con mayor progreso de la infección (8).

Cabe resaltar que, en ensayos *in vitro*, se ha reportado un aumento en la replicación del virus dosis dependiente, en monocitos y macrófagos pretratados con IL-1 $\beta$  o IL-18, respectivamente (9, 10). Lo cual apunta a que estas citoquinas tienen un papel importante durante la infección por VIH-1. Asimismo, se ha reportado que los pacientes progresores presentan mayor expresión transcripcional de algunos componentes de los inflammasomas, así como mayor secreción de IL-1 $\beta$  e IL-18, comparados con los controladores (11). Estos resultados indican que los inflammasomas tienen un papel importante durante la infección por VIH-1.

Sin embargo, la respuesta inflamatoria es el resultado de la activación de un gran número de vías de señalización y existen múltiples factores que pueden alterarla, algo que podría verse apoyado por la variabilidad en el proceso inflamatorio observado entre los individuos infectados con VIH-1. En este sentido, estudios previos muestran que los individuos con VIH-1 presentan una disminución en los niveles de HDL, una lipoproteína con propiedades inmunomoduladoras (12). Asimismo, se ha encontrado que los niveles de HDL

se correlacionan con parámetros de la infección, como el conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y la carga viral, lo que apunta a que la HDL podría tener un impacto durante la infección por VIH-1 (11, 13). Recientemente, en un estudio con población de Medellín, Colombia, la HDL se correlacionó con la expresión transcripcional de NLRP3, así como con otros componentes de los inflamomas y sus productos (14). Pese a estos antecedentes, no es frecuente hallar estudios que evalúen el efecto simultáneo de los inflamomas, el HDL y otros factores inmunológicos en la infección por VIH-1, a pesar de sus posibles interacciones, por lo que se hace necesario un estudio multivariado que permita identificar las variables con mayor potencial explicativo.

La complejidad de la respuesta inmune en la infección por VIH-1 evidencia la necesidad de evaluar el efecto simultáneo y recíproco de diferentes marcadores inflamatorios e inmunológicos y, de esta forma, determinar un potencial efecto independiente de la expresión de los inflamomas sobre la infección por VIH-1. Esto podría dar indicio de los factores que pueden regular la actividad de estos complejos, apuntar a posibles blancos de estudio para el desarrollo de drogas que puedan contribuir al control de la inflamación durante la infección por VIH-1 e identificar los principales factores inmunológicos relacionados con la infección, que podrían hacer más preciso el seguimiento al estado de los pacientes. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue explorar los principales componentes inflamatorios e inmunológicos con un potencial explicativo de la infección por VIH-1.

## Materiales y métodos

### Población y tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional analítico de casos y controles con 36 individuos con VIH-1 sin terapia antirretroviral y un grupo con 36 individuos sanos pareados por edad y sexo, todos residentes en Antioquia, Colombia. En ambos grupos se aplicaron como criterios de exclusión la presencia de co-infecciones actuales, historial de hipercolesterolemia familiar, cáncer, tiroides o consumo de estatinas.

Para establecer el tamaño de muestra, dada la diversidad de parámetros evaluados, se tomó una escala normalizada con resultados entre 0 y 100, se tomaron los siguientes parámetros: desviación estándar en los casos de 10 y en los controles 15, diferencia de medias de 10, razón 1 a 1 entre caso y controles, y potencia estadística de 85, con los cual se estimó una muestra de 30 individuos por grupo, a los cuales se hizo una corrección de muestreo del 20%.

## Recolección de la información

Todos los sujetos completaron la encuesta ASSIST V 3.0 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para evaluar el consumo de tabaco, alcohol y otras sustancias psicoactivas; la Encuesta Internacional de Actividad Física (IPAQ); y una encuesta de datos sociodemográficos. Se obtuvo una muestra de 20 mL de sangre periférica por venupunción en tubos *Vacutainer* con y sin EDTA. Se obtuvo plasma y suero por centrifugación a 2000 rpm o 3500 rpm, respectivamente; las muestras fueron almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

La extracción de RNA se hizo a partir de células mononucleares de sangre periférica, obtenidas mediante el método de gradiente de densidad con Ficoll Histopaque con el estuche comercial RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Inc., Valencia, CA, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. La determinación de concentración/pureza se hizo por espectrofotometría a 260/280 nm. La síntesis de cDNA se realizó con 230 ng de RNA total con el estuche comercial “Revertaid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit” (Fermentas, Glen Burnie, MD, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

En los componentes de los inflamomas, el mRNA de NLRP1, NLRP3, NLRC4, AIM2, ASC, caspasa-1, IL-1 $\beta$  e IL-18 fue cuantificado por RT-PCR en tiempo real a partir del cDNA utilizando el estuche comercial “Maxima SYBR Green qPCR master mix” (Fermentas). Se utilizó como control y patrón de medida la amplificación específica del mRNA del gen de expresión constitutiva  $\beta$ -actina. Los protocolos de amplificación fueron de 39 ciclos y estandarizados para cada gen (tabla 1). Para el análisis de la RT-PCR en tiempo real, se usó el software CFX Manager Version: 1.5.534.0511 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

En los marcadores inflamatorios solubles, la proteína C reactiva (PCR) fue cuantificada en un laboratorio clínico certificado utilizando la técnica de inmunturbidimetría. Las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  e IL-6 fueron cuantificadas por ELISA usando estuches comerciales de BD Biosciences (Franklin Lakes, NJ, USA); y para IL-18 fue utilizado el kit de eBioscience, (Human IL-18 Matched Antibody Pairs BMS267/2MTS, eBioscience, Vienna, Austria), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras fueron procesadas por duplicado y la concentración de las citoquinas fue calculada a partir de una curva de calibración.

A todos los individuos del estudio se les realizó conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup> (LT CD4<sup>+</sup>) con un protocolo que incluyó: 1) recuento de leucocitos totales por hemograma en laboratorio clínico, y 2) recuento de linfocitos T utilizando anticuerpos monoclonales específicos para CD3 (Anti-CD3-FITC; clona: UCHT1), CD4 (Anti-CD4-APC; Clona: RPA-T4) y CD8 (Anti-CD8-PE, clona: RPA-T8) (eBioscience, San Diego, USA) por citometría de flujo (FACS BD Biosciences, San José, CA, USA). La carga viral fue realizada en un laboratorio clínico certificado a partir de plasma, obtenido de sangre periférica tomada en tubos con el anticoagulante EDTA. Por último, los niveles de HDL fueron cuantificados mediante un ensayo colorimétrico, usando un estuche comercial (Biosystems; Costa Brava 30, Barcelona, España).

## Análisis estadístico

La descripción de los grupos de estudio se realizó con medidas de resumen y con frecuencias, según la naturaleza de las variables. La comparación de las variables cualitativas nominales entre los pacientes y los controles se realizó con la prueba *ji* cuadrado y exacta de Fisher, según la frecuencia de datos. La comparación de las variables ordinales entre los dos grupos de estudio se realizó con la prueba *ji* cuadrado de tendencia lineal, el análisis de las variables cuantitativas se hizo con la prueba U de Mann Whitney o t Student, según el cumplimiento del supuesto de normalidad. Las correlaciones entre las variables inmunológicas se realizaron con la prueba Rho de Spearman para datos no normales. El supuesto de normalidad bivariada se probó con la prueba de Shapiro Wilk. El ajuste multivariado que permitió identificar las variables inmunológicas con mayor potencial explicativo y controlar los factores de confusión, se realizó mediante regresión logística binaria, cuya bondad de ajuste se probó con el estadístico de Wald y la prueba de Hosmer-lemeshow. Para asegurar buena potencia en los análisis multivariados, se aseguraron mínimo ocho mediciones por cada variable independiente del modelo, permitiendo hasta nueve variables independientes, estas fueron seleccionadas con el método Stepwise. Todos los análisis se realizaron en SPSS 24.0 con significación de 0.05.

## Aspectos éticos

Todos los participantes firmaron el consentimiento informado, aprobado por el comité de ética para la investigación de la Universidad Cooperativa de Colombia (código 0800-005). Todos los protocolos de investigación fueron realizados de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki y la normativa nacional Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud.

## Resultados

Los dos grupos de estudio fueron estadísticamente similares para las variables sociodemográficas y conductuales, con mayor proporción de hombres, personas con peso normal, moderada actividad física y bajo consumo de alcohol, tabaco y psicoactivos (tabla 1).

Tabla 1. Descripción de los grupos de estudio

	VIH-1 % (n)	Controles % (n)	Vp
<b>Género</b>			
Mujer	47.2 (17)	47.2 (17)	1.000 <sup>a</sup>
Hombre	52.8 (19)	52.8 (19)	
<b>Consumo de tabaco</b>			
Bajo	85.7 (12)	96.9 (31)	0.216 <sup>b</sup>
Moderado	14.3 (2)	3.1 (1)	
<b>Uso de anticonceptivos</b>			
Sí	14.3 (2)	35.3 (6)	0.240 <sup>b</sup>
No	85.7 (12)	64.7 (11)	
<b>Consumo alcohol</b>			
Bajo	100.0 (14)	87.5 (28)	0.298 <sup>b</sup>
Moderado	0.0 (0)	12.5 (4)	
<b>Consumo de psicoactivos</b>			
Bajo	92.9 (13)	96.9 (31)	0.521 <sup>b</sup>
Moderado	7.1 (1)	3.1 (1)	
<b>Nivel de peso</b>			
Bajo	3.1 (1)	2.9 (1)	0,782 <sup>c</sup>
Normal	50.0 (16)	54.3 (19)	
Sobrepeso	46.9 (15)	42.9 (15)	
<b>Actividad física</b>			
Bajo	23.1 (3)	15.6 (5)	0239 <sup>c</sup>
Moderado	53.8 (7)	40.6 (13)	
Alto	23.1 (3)	43.8 (14)	
<b>Edad</b>			
Media ± Desviación	30 ± 10	33 ± 11	0.274 <sup>d</sup>
Mediana (RIQ)	28 (23-37)	30 (24-42)	
<b>IMC</b>			
Media ± Desviación	24.3 ± 3.8	23.6 ± 2.8	0.408 <sup>e</sup>
Mediana (RIQ)	24.6 (21.5-26.9)	24.1 (21.8 - 25.8)	

Vp: Valor p. IMC: Índice de masa corporal. RIQ: Rango intercuartílico

<sup>a</sup> Chi Cuadrado de Pearson. <sup>b</sup> Prueba exacta de Fisher. <sup>c</sup> Chi cuadrado de tendencial lineal. <sup>d</sup> Prueba U de Mann Whitney. <sup>e</sup> Prueba t Student.

En el grupo de personas con VIH-1, la media del tiempo viviendo con la infección fue 27.8 ± 40.3 meses, el 50% refirió 10 meses con rango intercuartil de 2-44 meses y rango entre 1 y 168 meses. La media de la carga viral en los pacientes fue 51 654 ± 86 950, la mediana 15 011, el rango intercuartil 1240-48 368 y el rango entre 20-33 2220 copias.

En las mediciones del perfil lipídico y los componentes inmunológicos, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las personas con VIH-1 y los controles para los valores de HDL, el recuento de LT CD4, relación CD4/CD8 y el mRNA IL-18 que fueron mayores en los controles y para los valores de recuento de LT CD8, mRNA NLRP1 y mRNA ASC que presentaron valores más altos en las personas con VIH-1 (tabla 2).

**Tabla 2.** Comparación de marcadores inmunológicos en los grupos de estudio

	VIH-1	Controles	U de Mann Whitney
	Me (RIQ)	Me (RIQ)	
HDL (mg/dL)	35,4 (28,2-40,5)	45.2 (37.4-49.0)	0.000**
LT CD4+	593 (401-748)	791 (660-1023)	0.000**
Relación CD4/CD8	0,62 (0,5-1,3)	2.1 (1.8-2.5)	0.000**
mRNA NLRP1	29,4 (20,5-90,9)	21.4 (14.0-27.7)	0.007**
mRNA ASC	25,2 (20,1-30,1)	20.9 (17.7-23.6)	0.015*
IL-6 (pg/mL)	4,0 (4,0-21,0)	4.0 (4.0-8.0)	0.058
mRNA AIM2	8,9 (5,9-11,7)	6.3 (5.0-10.7)	0.080
PCR	0,2 (0,1-0,4)	0.1 (0.06-0.2)	0.160
mRNA NLRP3	4.3 (2.6-5.7)	4.6 (3.2-6.4)	0.259
mRNA IL-1B	6.1 (3.7-18.0)	8.1 (4.2-16.1)	0.385
VLDL (mg/dL)	12.7 (11.0-19.5)	14.4 (10.1-22.1)	0.665
Triglicéridos (mg/dL)	63.5 (55.0-104.4)	72.0 (50.5-110.7)	0.740
mRNA CASP-1	61.1 (47.9-97.8)	65.2 (46.4-81.5)	0.752
IL-18 (pg/mL)	124.0 (44.6-150.9)	124.5 (49.3-168.8)	0.752
IL-1β (pg/mL)	4.0 (4.0-4.0)	4.0 (4.0-4.0)	0.976
	X±DE	X±DE	T Student
LT CD8+	805 ± 404	424 ± 177	0.000**
mRNA IL-18	3.5549 ± 1.4673	5.2756 ± 1.8794	0.000**
Colesterol Total (mg/dL)	154.6 ± 38.8	166.8 ± 38.4	0.184
mRNA NLRP4	2.4932 ± 1.4139	2.8849 ± 1.4099	0.243
LDL (mg/dL)	101.7 ± 40.0	102.4 ± 33.4	0.932

HDL: Lipoproteínas de alta densidad. LT CD4+: Linfocitos T CD4+. PCR: Proteína c reactiva. VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad.

\*\*p < 0.01. \*p < 0.05. Me: Mediana. RIQ: Rango Intercuartil. x: Media. DE: Desviación Estándar.

Entre las variables que presentaron diferencias estadísticas entre los infectados y los controles, se presentaron algunas correlaciones que evidencian la simultaneidad de algunas mediciones inmunológicas, así como potenciales modificaciones del efecto (confusión) y la necesidad de un ajuste multivariado. En este sentido, los valores de HDL se correlacionaron con el recuento de LT CD4, LT CD8 y la relación CD4/CD8, mientras que los niveles de mRNA IL-18

presentó correlación con el recuento de LT CD8 y la relación CD4/CD8 (tabla 3). Mrna NLRP1 y mRNA ASC no presentaron relación otras variables asociadas con la infección por VIH-1.

**Tabla 3.** Coeficientes de correlación Rho de Spearman para las variables inmunológicas relacionadas con la infección por VIH-1

	HDL	LT CD4+	LT CD8+	Relación CD4/CD8	mRNA ASC
HDL	1.000	0.521**	-0.283*	0.524**	-0.216
LT CD4+	0.521**	1.000	-0.027	0.575**	-0.172
LT CD8+	-0.283*	-0.027	1.000	-0.755**	0.082
Relación CD4/CD8	0.524**	0.575**	-0.755**	1.000	-0.188
Mrna IL-18	0.153	0.228	-0.306*	0.358**	0.209

HDL: Lipoproteínas de alta densidad. LT CD4+: Linfocitos T CD4+. LT CD8+: Linfocitos T CD8+. \*\*p < 0.01. \*p < 0.05.

Al realizar un ajuste multivariado para identificar los factores con mayor potencial explicativo de la respuesta inmune de las personas con VIH-1, se evidenció que las únicas variables con diferencias estadísticamente significativas y con efecto independiente de las demás mediciones realizadas en el estudio fueron la relación CD4+ / CD8+, el mRNA IL-18 y el mRNA ASC (tabla 4).

**Tabla 4.** Modelos de regresión logística binaria para las variables inmunológicas asociadas con la infección por VIH-1

	B	Error estándar	Wald	Vp
Relación CD4+ / CD8+	2.523	0.742	11.565	0.001**
mRNA IL-18	0.782	0.272	8.237	0.004**
mRNA ASC	-0.211	0.086	6.047	0.014*

Vp: Valor p. \*\*p < 0.01. \*p < 0.05.

## Discusión

La respuesta inflamatoria durante la infección por VIH-1 constituye su principal mecanismo inmunopatogénico y la variación de diferentes marcadores inflamatorios se asocia con la progresión a Sida (6). De hecho, aún con el uso de la terapia antirretroviral, los niveles de algunos marcadores inflamatorios no retornan a sus valores normales y esta inflamación residual se asocia con el desarrollo de alteraciones cardiovasculares, renales y neurocognitivas, entre otras (15-17). Entre los mecanismos de la respuesta inflamatoria que contribuyen a este proceso, se encuentra la activación de los inflamasomas, los cuales se ensamblan y activan durante la infección por VIH-1, contribuyendo a la maduración de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  e IL-18 (5). De hecho, se ha observado que estas

citoquinas proinflamatorias pueden inducir un aumento en la producción de partículas virales de forma dosis dependiente, en macrófagos y monocitos infectados por VIH-1, lo que indica un efecto patogénico durante la infección por VIH-1 (9, 10).

Similar a lo reportado en la literatura, se encontró que los pacientes con VIH-1 de Colombia presentan un aumento en la expresión génica de los componentes NLRP1 y ASC de los inflamomas; lo que confirma que estos complejos se ven activados durante la infección por VIH-1. Sin embargo, se observó una disminución en la expresión génica de la citoquina IL-18 en los pacientes con VIH-1. Particularmente, se ha reportado en diferentes estudios que la IL-18 se encuentra aumentada en los pacientes con VIH-1, contribuyendo al proceso inflamatorio exacerbado que se observa durante la infección y que está asociada con su progresión (17, 18). La disminución observada en este análisis podría, por ejemplo, atribuirse a mecanismos inmunoreguladores activados en respuesta a la alta producción de la citoquina; sin embargo, sería necesario realizar estudios que confirmen esta hipótesis.

En cuanto a los parámetros del perfil lipídico evaluados, se encontró una disminución en los niveles de HDL; la cual puede regular negativamente la activación del inflamoma NLRP3 (19, 20). Respecto a los parámetros inmunológicos, se encontró una disminución en el recuento de linfocitos T CD4+ en los pacientes con VIH-1, así como de la relación CD4/CD8. Clínicamente, la carga viral y el recuento de LT CD4+ son usados como predictores del progreso de la infección; de hecho, el recuento de linfocitos T CD4+ ha sido el parámetro indicado para iniciar el tratamiento antirretroviral, sin embargo, las nuevas guías recomiendan iniciar el tratamiento independiente del recuento (21-24). Además de estos dos parámetros, la relación CD4/CD8 ha sido estudiada como predictor de la progresión de la infección, donde se encontró que los individuos con una baja relación CD4/CD8 tienen un mayor riesgo de sufrir comorbilidades no asociadas con Sida, incluso en aquellos pacientes que están en terapia antirretroviral y con carga viral indetectable (25). Esto parece deberse a que una baja relación CD4/CD8 indica una pérdida en los linfocitos T CD4+ y a mayor proporción de Linfocitos T CD8+ inducidos por la hiperactivación inmune que persiste a pesar de la terapia y que van generando disfunción inmune (25). En este sentido, se ha reportado que la relación CD4/CD8 se correlaciona negativamente con marcadores inflamatorios como la IL-6 (26). En apoyo a esto, en este estudio se encontró además de la disminución de la relación CD4/CD8 un aumento en el recuento de linfocitos T CD8+ en los individuos con VIH-1, lo que sugiere un comportamiento similar al reportado y ayuda a consolidar esta hipótesis.

Debido a las múltiples interacciones entre respuesta inflamatoria, parámetros clínicos y perfil lipídico durante la infección por VIH-1, se analizaron posibles asociaciones entre ellas encontrándose una correlación positiva entre los niveles de HDL y el recuento de CD4+, así como con la relación CD4/CD8; lo que indica que a mayores niveles de HDL hay un mayor recuento de linfocitos CD4+ y una relación de CD4/CD8 más cercana a los valores normales. Esto sugiere que la HDL podría tener un papel durante la infección con VIH-1, relacionándose

con menor pérdida de linfocitos  $CD4^+$  y debido a sus efectos inmunomoduladores podría estar relacionada con una menor activación inmune, reflejada en parte por una correlación negativa con el recuento de  $CD8^+$ .

En cuanto a la correlación hallada entre la IL-18 y el recuento de linfocitos  $T CD8^+$ , así como con la relación  $CD4/CD8$ , negativa y positiva, respectivamente, pareciera sugerir que la IL-18 tiene un efecto protector frente a la infección por VIH-1; de hecho, se ha reportado que esta citoquina podría estar participando en la restauración de una población celular importante durante la infección (27). Sin embargo, otros estudios han mostrado que la IL-18 tiene un efecto patogénico durante la infección por VIH-1, aumentando el proceso inflamatorio, el número de células blanco y el agotamiento inmune, que se observa en los últimos estadios de la infección (18). Estos resultados contradictorios ponen de manifiesto la necesidad de hacer más estudios para dilucidar el complejo papel que parece tener esta citoquina durante las diferentes etapas de la infección por VIH-1.

Finalmente, en este estudio se encontró que entre los parámetros alterados que se observaron en los pacientes con VIH-1, la relación  $CD4^+/CD8^+$ , mRNA IL-18 y mRNA ASC tienen un efecto independiente sobre la infección por VIH-1. Esto sugiere que en esta población de estudio la disminución en la relación  $CD4^+/CD8^+$  y en la expresión génica de IL-18, así como el aumento en la expresión génica de ASC en los pacientes con VIH-1 contribuyen de manera directa en la infección por VIH. Sin embargo, son necesarios estudios adicionales que permitan validar estos resultados en una población más grande, explorar los mecanismos causales de estas relaciones y definir si los demás parámetros evaluados presentaron un efecto independiente en otras poblaciones.

Conocer los factores que tienen efecto directo sobre la infección por VIH-1 puede marcar el inicio en la identificación de posibles blancos para el desarrollo de medicamentos que complementen la terapia antirretroviral y de este modo contribuyan a una mejor calidad de vida del paciente. El proceso inflamatorio que se desarrolla, aún en presencia de la terapia antirretroviral, es el principal mecanismo inmunopatológico de la infección y en el cual contribuyen múltiples moléculas y vías de señalización. Acorde con esto, no solo se encontró una alteración en los niveles de la expresión génica de algunos componentes de los inflamasomas, sino además que algunos de estos tienen un efecto independiente en la infección por VIH-1. Estos resultados sugieren la importancia de estudiar estos complejos y los identifica como potenciales blancos terapéuticos para disminuir la respuesta inflamatoria y, de esta forma, menor progresión de la infección. Por otra parte, la identificación de la relación  $CD4/CD8$  confirma la importancia de este factor como un predictor de progresión de la infección.

Finalmente, la realización de estudios multivariados representa una valiosa herramienta en la identificación de los principales factores que explican un fenómeno presente en una población determinada, en este caso, se identificó que algunos componentes de los inflamasomas, así como la relación  $CD4/CD8$ , tienen un efecto directo en la infección por VIH-1.

## Contribución de los autores

**A**dquisición de fondos y administración del proyecto: Juan Carlos; Concepción y diseño de experimentos: Damariz y Juan Carlos. Investigación: Damariz y Juan Carlos; análisis formal: Damariz, Jaiberth y Juan Carlos; preparación del manuscrito original: Damariz, Jaiberth y Juan Carlos; edición y revisión del manuscrito: Jaiberth y Juan Carlos; aprobación del manuscrito para publicación: Damariz, Jaiberth y Juan Carlos.

## Agradecimientos

**E**ste estudio fue financiado por la Universidad Cooperativa de Colombia y Colciencias (Colombia), proyecto 141565741029.

## Conflicto de intereses

**N**inguno de los autores tiene ningún conflicto de interés relacionado con el manuscrito.

## Referencias

1. Im H, Ammit AJ. The NLRP3 inflammasome: role in airway inflammation. *Clin Exp Allergy*. 2014;44(2):160-72. Doi: [10.1111/cea.12206](https://doi.org/10.1111/cea.12206)
2. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(7):407-20. Doi: [10.1038/nri.2016.58](https://doi.org/10.1038/nri.2016.58)
3. McIntire CR, Yeretssian G, Saleh M. Inflammasomes in infection and inflammation. *Apoptosis* 2009;14(4):522-35. Doi: [10.1007/s10495-009-0312-3](https://doi.org/10.1007/s10495-009-0312-3)
4. Aganna E, Martinon F, Hawkins PN, Ross JB, Swan DC, Booth DR, et al. Association of mutations in the *NALP3/CIAS1/PYPAF1* gene with a broad phenotype including recurrent fever, cold sensitivity, sensorineural deafness, and AA amyloidosis. *Arthritis Rheum*. 2002;46(9):2445-52. Doi: [10.1002/art.10509](https://doi.org/10.1002/art.10509)
5. Hernandez JC, Latz E, Urcuqui-Inchima S. HIV-1 induces the first signal to activate the NLRP3 inflammasome in monocyte-derived macrophages. *Intervirology*. 2014;57(1):36-42. Doi: [10.1159/000353902](https://doi.org/10.1159/000353902)
6. Boasso A, Shearer GM. Chronic innate immune activation as a cause of HIV-1 immunopathogenesis. *Clin Immunol*. 2008;126(3):235-42. Doi: [10.1016/j.clim.2007.08.015](https://doi.org/10.1016/j.clim.2007.08.015)

7. Hazenberg MD, Otto SA, van Benthem BH, Roos MT, Coutinho RA, Lange JM, et al. Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS. *Aids*. 2003;17(13):1881-8. Doi: [10.1097/01.aids.0000076311.76477.6e](https://doi.org/10.1097/01.aids.0000076311.76477.6e)
8. Neuhaus J, Jacobs DR, Jr., Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis*. 2010;201(12):1788-95. Doi: [10.1086/652749](https://doi.org/10.1086/652749)
9. Granowitz EV, Saget BM, Wang MZ, Dinarello CA, Skolnik PR. Interleukin 1 induces HIV-1 expression in chronically infected U1 cells: blockade by interleukin 1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein type 1. *Mol Med*. 1995;1(6):667-77. Doi: [10.1007/BF03401607](https://doi.org/10.1007/BF03401607)
10. Shapiro L, Puren AJ, Barton HA, Novick D, Peskind RL, Shenkar R, et al. Interleukin 18 stimulates HIV type 1 in monocytic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(21):12550-5. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.21.12550>
11. Feria MG, Taborda NA, Hernández JC, Rugeles MT. HIV replication is associated to inflammasomes activation, IL-1beta, IL-18 and caspase-1 expression in GALT and peripheral blood. *PLoS One*. 2018;13(4):e0192845. Doi: [10.1371/journal.pone.0192845](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192845)
12. Marín-Palma D, Taborda N, Urcuqui-Inchima S, Hernández J. Inflamación y respuesta inmune innata: Participación de las lipoproteínas de alta densidad. *IATREIA*. 2017 Oct-Dic;30(4):423-35. Doi: [10.17533/udea.iatreia.v30n4a06](https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v30n4a06)
13. Rangaswamy KS. Correlation between High-density Lipoprotein Cholesterol Level and CD4 Cell Count in HIV Patients on NNRTI-Based ART Regimen at Tertiary Care Hospital in Mysuru. *Int J Sci Stud*. 2017;5(3):150-4. Doi: [10.17354/ijss/2017/286](https://doi.org/10.17354/ijss/2017/286)
14. Marín-Palma D, Castro G, Cardona-Arias J, Urcuqui-Inchima S, Hernández J. Lower High-Density Lipoproteins Levels During Human Immunodeficiency Virus Type I Infection Are Associated with Increased Inflammatory Markers and Disease Progression. *Front Immunol*. 2018;9:1350. Doi: [10.3389/fimmu.2018.01350](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01350)
15. Kuller LH, Tracy R, Bellosso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Medicine*. 2008;5(10):e203. Doi: [10.1371/journal.pmed.0050203](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050203)
16. Abraham AG, Darilay A, McKay H, Margolick JB, Estrella MM, Palella FJ, Jr., et al. Kidney Dysfunction and Markers of Inflammation in the Multicenter AIDS Cohort Study. *The Journal of infectious diseases*. 2015;212(7):1100-10. Doi: [10.1093/infdis/jiv159](https://doi.org/10.1093/infdis/jiv159)
17. Eckard AR, Rosebush JC, O'Riordan MA, Graves CC, Alexander A, Grover AK, et al. Neurocognitive dysfunction in HIV-infected youth: investigating the relationship with immune activation. *Antivir Ther* 2017;22(8):669-80. Doi: [10.3851/IMP3157](https://doi.org/10.3851/IMP3157)
18. Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Flisiak R, Prokopowicz D. Plasma interleukin-18 is associated with viral load and disease progression in HIV-1-infected patients. *Microbes Infect*. 2004;6(14):1273-7. Doi: [10.1016/j.micinf.2004.07.009](https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.07.009)
19. Thacker SG, Zarzour A, Chen Y, Alcicek MS, Freeman LA, Sviridov DO, et al. High-density lipoprotein reduces inflammation from cholesterol crystals by inhibiting inflammasome activation. *Immunology*. 2016;149(3):306-19. Doi: [10.1111/imm.12638](https://doi.org/10.1111/imm.12638)

20. Thompson MR, Kaminski JJ, Kurt-Jones EA, Fitzgerald KA. Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection. *Viruses*. 2011;3(6):920-40. Doi: [10.3390/v3060920](https://doi.org/10.3390/v3060920)
21. Socias ME, Sued O, Laufer N, Lazaro ME, Mingrone H, Pryluka D, et al. Acute retroviral syndrome and high baseline viral load are predictors of rapid HIV progression among untreated Argentinean seroconverters. *J Int AIDS Soc*. 2011;14:40. Doi: [10.1186/1758-2652-14-40](https://doi.org/10.1186/1758-2652-14-40)
22. Turk G, Ghiglione Y, Hormanstorfer M, Laufer N, Coloccini R, Salido J, et al. Biomarkers of Progression after HIV Acute/Early Infection: Nothing Compares to CD4(+) T-cell Count? *Viruses*. 2018;10(1). Doi: [10.3390/v10010034](https://doi.org/10.3390/v10010034)
23. Gunthard HF, Saag MS, Benson CA, del Rio C, Eron JJ, Gallant JE, et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2016 Recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *Jama*. 2016;316(2):191-210. Doi: [10.1001/jama.2016.8900](https://doi.org/10.1001/jama.2016.8900)
24. Meintjes G, Moorhouse MA, Carmona S, Davies N, Dlamini S, van Vuuren C, et al. Adult antiretroviral therapy guidelines 2017. *South Afr J HIV Med*. 2017;18(1):776. Doi: [10.4102/sajhivmed.v18i1.776](https://doi.org/10.4102/sajhivmed.v18i1.776)
25. Lu W, Mehraj V, Vyboh K, Cao W, Li T, Routy JP. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc*. 2015;18:20052. Doi: [10.7448/IAS.18.1.20052](https://doi.org/10.7448/IAS.18.1.20052)
26. Bastard JP, Soulie C, Fellahi S, Haim-Boukobza S, Simon A, Katlama C, et al. Circulating interleukin-6 levels correlate with residual HIV viraemia and markers of immune dysfunction in treatment-controlled HIV-infected patients. *Antiviral Therapy*. 2012;17(5):915-9. Doi: [10.3851/IMP2093](https://doi.org/10.3851/IMP2093)
27. Murday AS, Chaudhry S, Pauza CD. Interleukin-18 activates Vgamma9Vdelta2(+) T cells from HIV-positive individuals: recovering the response to phosphoantigen. *Immunology*. 2017;151(4):385-94. Doi: [10.1111/imm.12735](https://doi.org/10.1111/imm.12735)