

Correlación entre carga viral elevada y concentraciones de TNF- α y cICAM-1 en el plasma de niños infectados por el VIH-1

S. Resino^a, J.L. Jiménez^a, J.M. Bellón^a, D. Gurbindo^b y M.A. Muñoz-Fernández^a

^aSecciones de Inmunología e ^bInmuno-Pediatría. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

(An Esp Pediatr 2000; 52: 501-506)

Objetivo

Analizar si existe relación entre los valores plasmáticos del factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la molécula de adhesión intercelular circulante tipo 1 (cICAM-1) con valores de carga viral plasmática (CV) en niños infectados verticalmente por el VIH.

Pacientes y métodos

Estudiamos 44 niños VIH-1 y un grupo control de 38 niños no infectados por el VIH-1. Las subpoblaciones celulares se realizaron por citometría de flujo, las concentraciones de TNF- α y cICAM-1 se cuantificaron por técnicas de enzoinmunoanálisis y la CV se cuantificó mediante un análisis molecular estándar comercial.

Resultados

Los niños infectados por el VIH-1 presentaron valores significativamente más altos de TNF- α y cICAM-1 que los niños del grupo control. Dividimos a los niños VIH-1 según los valores de CV. Los niños VIH-1 con CV mayor de 50.000 copias/ml produjeron más TNF- α (12,83; IC del 95%: 24,71-0,95 pg/ml) y cICAM-1 (248,94; IC del 95%: 419,01-78,84 ng/ml) que los niños VIH-1 con CV inferior a 50.000 copias/ml, de tal forma que se producía un incremento de 6,57 pg/ml de TNF- α y de 119,97 ng/ml de cICAM-1 por cada log₁₀ de CV.

Conclusiones

Nuestros datos indican que a medida que en el plasma de los niños VIH-1 se incrementan los valores de CV también se incrementan los valores de TNF- α y cICAM-1.

Palabras clave:

VIH. Niños. Carga viral. TNF- α . cICAM-1.

RELATIONSHIP BETWEEN HIGH PLASMA VIRAL LOAD AND LEVELS OF TNF-A AND CICAM-1 IN VERTICALLY HIV-1 INFECTED CHILDREN

Objective

To assess the relationship among plasma TNF- α and cICAM-1 levels and plasma viral load (VL) in HIV-infected children and to compare these values with those of healthy non-HIV infected children.

Patients and methods

We studied 44 HIV-infected children and 38 non-HIV-infected children. The VL was quantified using standard molecular assay. CD4 and CD8 lymphocyte subpopulations were determined by flow cytometry. TNF- α and cICAM-1 were quantified using commercially available specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results

Levels of TNF- α and cICAM-1 were higher in HIV-infected children than in non-HIV infected children. HIV-infected children with VL > 50000 copies/ml had higher levels of TNF- α (12.83; 95% CI: 24.71 to 0.95 pg/ml) and cICAM-1 (248.94; 95% CI: 419.01 to 78.84 ng/ml) than HIV-infected children with VL < 50000 copies/ml. Interestingly, we found an increase of 6.57 pg/ml of TNF- α and 119.97 ng/ml of cICAM-1 levels for each log₁₀ of VL.

Conclusions

HIV-infected children had higher levels of TNF- α and cICAM-1 than healthy controls. Our data indicate a positive correlation among plasma TNF- α and cICAM-1 and VL levels.

Key words:

HIV. Children. Viral load. TNF- α . cICAM-1.

Correspondencia: Dra. M.A. Muñoz-Fernández. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. División de Inmunología. Dr. Esquerdo, 46. 28007 Madrid. Correo electrónico: Mmuoz@cbm.uam.es

Recibido en marzo de 2000.

Aceptado para su publicación en mayo de 2000.

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en el organismo provoca una pérdida progresiva del número de células CD4⁺ en sangre periférica y en tejido linfoidal¹. Los defectos funcionales celulares incluyen fallos en la proliferación y en la producción de citocinas como respuesta a los antígenos comúnmente encontrados y la anergia para la hipersensibilidad retardada en la piel² y pueden ser cuantitativos y/o cualitativos. El efecto principal es una profunda deficiencia inmune acompañada de una activación crónica de las células CD4⁺, CD8⁺ y monocitos³⁻⁵, que limita la capacidad del huésped para proveer defensas contra patógenos oportunistas potenciando la propagación del VIH^{6,7}.

Existen citocinas que pueden incrementar la replicación del VIH-1 pudiendo influir en el curso de la enfermedad⁸. El factor de necrosis tumoral (TNF- α) se encuentra frecuentemente elevado en la infección por el VIH y se correlaciona con una carga viral plasmática (CV) alta. Además, los valores de TNF- α aumentan con la progresión de la enfermedad⁹⁻¹¹. El TNF- α induce la replicación del VIH mediante la activación del factor nuclear NF- κ B, que se une al LTR del VIH aumentando su transcripción¹²⁻¹⁴. De esta manera, la infección por el VIH está asociada con una profunda distorsión de la homeostasia inmune. La molécula de adhesión intercelular tipo 1 (ICAM-1) se expresa en células inmunes (células T, células B, monocitos y células dendríticas) y no inmunes (células endoteliales y fibroblastos)¹⁵ y es inducible por citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- α ¹⁶ durante procesos inflamatorios y degenerativos¹⁵. En individuos adultos^{17,18}, niños¹⁰ y pacientes con procesos malignos se han encontrado valores en plasma altos de la molécula de adhesión intercelular circulante tipo 1 (cICAM-1)¹⁹.

Hemos realizado un estudio para determinar si existe asociación entre la replicación del VIH, cuantificada por la CV, y la concentración en sangre de las moléculas TNF- α (implicada en aumentar la replicación viral en células T) y cICAM-1 (molécula que es inducida por citocinas proinflamatorias).

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

Realizamos un estudio transversal con carácter retrospectivo en 44 niños infectados verticalmente por VIH-1 que acudieron a la consulta de Inmuno-Pediatría del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid. Estudiamos el número y el porcentaje de células T CD4⁺, T CD8⁺, cociente CD4/CD8, CV, TNF- α y cICAM-1. Los 44 niños se diagnosticaron como infectados utilizando métodos de detección directa del VIH previamente descritos (ADN-PCR y cultivo viral)²⁰. Como gru-

po control se utilizaron 38 niños sanos no VIH con una edad equivalente procedentes de la consulta de inmunopediatría. En todos los casos se obtuvo consentimiento de los padres o representantes legales para la realización del estudio.

Extracción y procesamiento del plasma

Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción en tubos con anticoagulante EDTA y los plasmas se separaron durante la primera hora tras la extracción por centrifugación. El plasma se congeló directamente a -70 °C después de su separación.

Cuantificación de ARN viral por RT-PCR

La CV se cuantificó usando un ensayo comercial (Amplicor-HIV MonitorTMTTest, Roche Diagnostic Systems, Branchburg [Nueva Jersey], EE.UU.), aprobado por la Federal Drug Administration (FDA)²⁰.

Análisis de subpoblaciones celulares

Se analizaron las subpoblaciones de células T de sangre periférica por inmunofluorescencia directa utilizando anticuerpos monoclonales de la serie T y citometría de flujo (FACScan, Becton-Dickinson, San José C.A., EE.UU.)²⁰.

Ensayo de producción de citocinas

Se cuantificó la producción de citocinas en los sueros por técnicas de enzimoanálisis (ELISA) comerciales. Los ELISA fueron realizados de acuerdo con las instrucciones del fabricante: TNF- α (Innogenetics, Haven, Zwijnaarde, Bélgica), cICAM-1 (Bender, MedSystems, Vienna, Austria). Las concentraciones de citocinas fueron medidas por duplicado.

Análisis estadístico

Los valores de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ se expresaron en porcentaje y en células/ μ l. En todos los análisis, los valores de CV se transformaron en logaritmo base 10 para normalizarlos.

Medimos la asociación entre variables utilizando el análisis paramétrico de correlación de Pearson. Para calcular la pendiente usamos el análisis de regresión lineal (coeficiente de regresión) entre el log₁₀ de la CV y las concentraciones de TNF- α y cICAM-1, ajustando por el número de células/ μ l CD4⁺ y CD8⁺. Las diferencias entre los distintos grupos de niños VIH-1 y controles sanos se calcularon por un análisis de regresión lineal múltiple ajustado por el número de células/ μ l CD4⁺ y CD8⁺.

RESULTADOS

Características generales de la población de estudio

Hemos evaluado las concentraciones de CD4⁺, CD8⁺, CV, ICAM y TNF- α , en sangre periférica de 44 niños

TABLA 1. Características inmunológicas y virológicas de los 44 niños VIH y de los 38 niños del grupo control sano no VIH

	CV < 50.000 copias/ml	CV > 50.000 copias/ml	Control sano
N.º de niños	30	14	38
Tratamiento			
Sí	18 (60%)	11 (78,6%)	–
No	12 (40%)	3 (21,4%)	–
Estadio inmunológico según CDCP			
≤ 15% T CD4 ⁺	1 (3,3%)	2 (14,3%)	–
15-25% T CD4 ⁺	2 (6,7%)	–	–
≥ 25% T CD4 ⁺	27 (90%)	12 (85,7%)	–
Estadio clínico según CDCP			
A	12 (40%)	2 (14,3%)	–
B	12 (40%)	3 (21,3%)	–
C	6 (20%)	9 (64,3%)	–
Edad (años)	5,81 ± 0,70 (0,08-13)	2,95 ± 0,88 (0,17-11)	2,89 ± 0,49 (0,08-12) [*]
Linfocitos T			
% T CD4 ⁺	22,35 ± 2,28 (1-41)	15,85 ± 3,16 (1-31)	42,68 ± 1,38 (27-57) [*]
% T CD8 ⁺	35,33 ± 2,35 (4-56)	28,57 ± 4,05 (5-52)	18,60 ± 0,92 (8-29) [*]
T CD4 ⁺ / μ l	853 ± 191 (10-5.368)	690 ± 206 (9-1.964)	2.387 ± 230 (1.028-4.975) [*]
T CD8 ⁺ / μ l	1.165 ± 206 (1-4.945)	1.049 ± 226 (131-2.830)	986 ± 88 (426-2.150)
CD4/CD8	0,71 ± 0,09 (0,03-2)	0,62 ± 0,13 (0,03-1,7)	2,57 ± 0,17 (1,08-5,33) [*]

Los valores están expresados como media \pm error estándar mínimo-máximo (EEM) y en número absoluto (%).

Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) del grupo de niños de control sano respecto a los dos grupos de niños VIH. CV: carga viral; CDCP: Center for Diseases Control Prevention; A: asintomático; B: síntomas moderados; C: síntomas de enfermedad grave o sida.

VIH-1⁺ en estadios A, B y C de la CDC²¹. Se estudian los diferentes parámetros virológicos e inmunológicos según el valor aproximado del percentil 75 de CV cuyo punto de corte es 50.000 copias/ml. El grupo VIH de estudio y el grupo control se describen en la tabla 1.

Relación de CV plasmática con TNF- α y cICAM-1

Estudiamos las concentraciones plasmáticas de TNF- α y cICAM en los dos grupos de niños y encontramos concentraciones plasmáticas significativamente más altas de TNF- α y cICAM-1 en los niños VIH que en los controles sanos. Al analizar si existía relación entre las concentraciones plasmáticas de TNF- α y cICAM-1 y el marcador virológico CV, realizando un análisis de regresión lineal ajustado por el número de células CD4⁺ y CD8⁺, encontramos coeficientes de regresión de signo positivo y estadísticamente significativos para TNF- α (6,57 [IC del

TABLA 2. Resumen de las diferencias en TNF- α y cICAM-1 en los 44 niños VIH (según el punto de corte de carga viral 50.000 copias/ml) y 36 controles sanos no VIH ajustado por el número de linfocitos T CD4⁺ y T CD8⁺

	CV < 50.000 copias/ml	CV > 50.000 copias/ml	Control sano
cICAM-1 (ng/ml)	507,3 \pm 30,8 ^b (260-840)	728,1 \pm 110,5 ^{b,d} (280-1.560)	294,8 \pm 17,1 (160-630)
TNF- α (pg/ml)	23,6 \pm 3,6 ^b (0-103)	34,1 \pm 4,6 ^{b,c} (0-64)	4,9 \pm 0,9 ^b (0-22)

Los valores están expresados como media \pm error estándar mínimo-máximo (EEM). TNF- α : factor de necrosis tumoral tipo alfa; cICAM-1: molécula de adhesión intercelular circulante tipo 1. CV: carga viral (copias/ml). Diferencias con el grupo control sano: ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$. Diferencias entre los dos grupos de niños VIH* divididos según carga viral: ^c $p < 0,05$; ^d $p < 0,01$.

95%: 1,04-12,1; $p = 0,021$) y cICAM-1 (119,97 [IC del 95%: 40,32-199,66; $p = 0,004$]), indicando que valores de CV altos, relacionados con fallos terapéuticos, se correlacionan con concentraciones de TNF- α y cICAM-1 altas. La concentración de TNF- α y cICAM-1 en suero aumenta a razón de 6,57 pg/ml y 119,97 ng/ml, respectivamente, por cada log₁₀ de CV que aumenta. También encontramos correlación positiva entre las moléculas de TNF- α y cICAM-1 ($r = 0,503$; $p = 0,001$).

Posteriormente, estudiamos si existía alguna relación de estos parámetros inmunológicos con el punto de corte de CV de 50.000 copias/ml (4,5 log). Seleccionamos este punto de corte de CV porque en estudios previos se había demostrado que en niños mayores de 12 meses de edad era un marcador muy potente de progresión a sida²². Al realizar un análisis de regresión múltiple para el punto de corte CV 50.000 copias/ml ajustado por el número de células CD4⁺ y CD8⁺, encontramos diferencias significativas entre los dos grupos de niños VIH (tabla 2). Hallamos una mayor concentración de TNF- α (-12,8 [-24,7 a -0,9]; $p = 0,035$) y cICAM-1 (-248,9 [419,1 a -78,8]; $p = 0,005$) en el plasma de los niños con CV mayor de 50.000 copias/ml, que los niños con CV inferior a 50.000 copias/ml. Además, los dos grupos de niños VIH presentaron valores superiores de TNF- α y cICAM-1 a los encontrados en los controles sanos.

DISCUSIÓN

Las citocinas son moléculas producto de la activación de las células del sistema inmunológico y desempeñan un papel importante en la patogenia de la infección por el VIH-1¹⁰. Estudios *in vitro* han demostrado que el TNF- α y otras citocinas pueden incrementar directamente la replicación en células infectadas por el VIH-1²³ y que la exposición de monocitos al VIH-1 puede inducir la producción de varias citocinas, entre las que se puede encontrar también el TNF- α ²⁴. La persistente alta concentración de TNF- α que hay en los pacientes con sida

o con infecciones oportunistas acelera la destrucción de los linfocitos CD4⁺ al potenciar la replicación del VIH²⁵. Se ha demostrado que valores séricos elevados de TNF- α están asociados con encefalopatía progresiva en niños con infección por el VIH-1 y con los marcadores de progresión de la enfermedad en adultos⁴. En correlación con estos datos, en nuestro estudio encontramos valores significativamente más altos de la citocina TNF- α y cICAM-1 en los niños infectados por el VIH-1 que en los niños del grupo control (tabla 2).

Se ha encontrado una correlación positiva entre la CV alta en adultos VIH asintomáticos con concentraciones plasmáticas elevadas de TNF- α , receptor soluble de TNF tipo II, receptor soluble de IL-2, β 2-microglobulina y neopterin⁸, lo cual indica que existe una correlación entre la activación inmune y el grado de replicación del VIH-1. También se ha encontrado una correlación entre TNF- α y CV en pacientes con síntomas graves²⁶. La CV en el niño, al igual que en el adulto, es el marcador virológico que mejor predice el curso de la infección^{22,27,28}. El virus o los productos virales incrementan la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 e IL-1²⁹ y, por otro lado, ciertas citocinas, incluido el TNF- α , pueden incrementar la replicación viral³⁰. En nuestro trabajo dividimos a los niños VIH-1 en dos grupos según el punto de corte de la CV mayor de 50.000 copias/ml (valor aproximado al percentil 75 de la CV) y encontramos valores más elevados de TNF- α y cICAM-1 en los niños con CV mayor de 50.000 copias/ml. La asociación directa entre el TNF- α y la CV reafirma la hipótesis de que la alteración en el balance de citocinas ejerce un papel fundamental en la patogenia de la infección por el VIH. De esta forma, los valores altos de TNF- α en niños VIH pueden ayudar a explicar el rápido curso de la infección perinatal; TNF- α incrementa la CV, mientras que la infección por el VIH puede subsecuentemente inducir la secreción de TNF- α , llegando a un círculo vicioso que acelera el curso de la infección. Aunque, no incorporado como un marcador de progresión en la clínica habitual, se debería incluir la posibilidad de evaluar el TNF- α como posible marcador de progresión de la infección por el VIH-1 en niños³¹. Actualmente, se están utilizando con éxito en otras enfermedades anticuerpos monoclonales humanizados anti-TNF- α ³². Además, es importante pensar en la utilización de nuevas estrategias terapéuticas en el tratamiento de la infección por el VIH-1.

Se desconoce el papel fisiológico de cICAM-1, que puede "bloquear" la comunicación celular del sistema inmune mediante interferencias en la presentación antigénica, la toxicidad mediada por la célula T y otras funciones importantes del sistema inmune³³. También se ha propuesto la cICAM-1 como una molécula que incrementa la producción de TNF- α ³⁴ y se conoce que el TNF- α induce cICAM-1 mediante la estimulación de NF-

κ B³⁵ constituyendo un círculo vicioso inicialmente estimulado por el VIH. Se ha observado una fuerte correlación entre la activación del sistema TNF- α y el estrés oxidativo de la célula en la infección por VIH³⁶, pudiéndose relacionar el aumento de cICAM-1, por estimulación con TNF- α , a través de la activación de NF- κ B por radicales del oxígeno³⁷. Sin embargo, no se ha estudiado si existe correlación positiva entre CV y cICAM-1 en adultos y niños VIH. En nuestro trabajo hemos encontrado una correlación positiva entre TNF- α y cICAM-1, que puede indicar una inducción de cICAM-1 por TNF- α ¹⁰.

Las terapias antirretrovirales potentes que incluyen inhibidores de proteasas están encaminadas a suprimir la replicación viral hasta alcanzar valores de CV indetectables en sangre periférica^{38,39}. Esta supresión de la CV supondría un descenso en la producción de TNF- α y cICAM-1, que rompería el círculo vicioso existente entre TNF- α y la replicación viral, de tal forma que se conseguiría una menor activación del sistema inmune, favoreciendo la no progresión de la enfermedad. La falta de adhesión al tratamiento o el fallo terapéutico puede provocar un aumento de la replicación viral que podría reflejarse y conducir a un aumento de TNF- α favoreciendo de nuevo el círculo vicioso entre esta citocina tan pleiotrópica y la replicación viral⁴⁰.

Aunque hemos observado una correlación positiva entre CV y TNF- α y nuestros datos indican que a medida que aumenta la carga viral aumentan los valores de TNF- α y cICAM-1, se necesitan más estudios para demostrar si la medición de TNF- α puede ser un parámetro temprano de activación y predice el aumento de la CV en pacientes pediátricos que consigan, con las nuevas terapias, llegar a valores de carga viral indetectables.

Agradecimiento

A Consuelo Muñoz, Dolores García Alonso y M.^a Jesús Gómez Jiménez por su excelente labor técnica.

Este trabajo se ha realizado con financiación del Programa Nacional de Salud (SAF 99-0022), de la Comunidad de Madrid (08.5/0019/98) y la Fundación para la Investigación y la Prevención del Sida en España (FIPSE) y Bristol-Myers, S.A. (Grupo Bristol-Myers Squibb).

BIBLIOGRAFÍA

1. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF, Butini L, Montroni M, Fox CH et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993; 362: 355-358.
2. Clerici M, Stocks NI, Zajac RA, Boswell RN, Lucey DR, Via CS et al. Detection of three distinct patterns of T helper cell dysfunction in asymptomatic, human immunodeficiency virus-seropositive. Independence of CD4⁺ cell numbers and clinical staging. *J Clin Invest* 1989; 84: 1892-1899.
3. Liu Z, Cumberland WG, Hultin LE, Prince HE, Detels R, Giorgi JV. Elevated CD38 antigen expression on CD8⁺ T cells is a stronger marker for the risk of chronic HIV disease progression to AIDS and death in the Multicenter AIDS Cohort Study

- than CD4+ cell count, soluble immune activation markers, or combinations of HLA-DR and CD38 expression. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997; 16: 83-92.
4. Aukrust P, Liabakk NB, Muller F, Lien E, Espevik T, Froland SS. Serum level of tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) and soluble TNF receptors in human immunodeficiency virus type 1 infection-correlations to clinical, immunologic, and virologic parameters. *J Infect Dis* 1994; 169: 420-424.
 5. Hamann D, Baars PA, Rep MH, Hooibrink B, Kerkhof-Garde SR, Klein MR et al. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *J Exp Med* 1997; 186: 1407-1418.
 6. Israel-Biet D, Cadranet J, Beldjord K, Andrieu JM, Jeffrey A, Even P. Tumor necrosis factor production in HIV-seropositive subjects. Relationships with lung opportunistic infections and HIV expression in alveolar macrophages. *J Immunol* 1991; 147: 490-497.
 7. Lau AS, Williams BR. The role of interferon and tumor necrosis factor in the pathogenesis of AIDS. *J Exp Pathol* 1990; 5: 111-122.
 8. Salazar-González JF, Martínez-Maza O, Aziz N, Kolberg JA, Yeghiazarian T, Shen LP et al. Relationship of plasma HIV-RNA levels and levels of TNF-alpha and immune activation products in HIV infection. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 84: 36-45.
 9. Than S, Hu R, Oyaizu N, Romano J, Wang X, Sheikh S et al. Cytokine pattern in relation to disease progression in human immunodeficiency virus-infected children. *J Infect Dis* 1997; 175: 47-56.
 10. Obregón E, Börner C, Navarro J, Gurbindo MD, Fernández-Cruz E, Muñoz-Fernández MA. Elevated levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 and tumor necrosis factor α in the serum of children vertically infected with HIV-1. *Pediatric AIDS and HIV Infection: Fetus and adolescent* 1996; 7: 413-417.
 11. Brown CC, Poli G, Lubaki N, St. Louis M, Davachi F, Musey L et al. Elevated levels of tumor necrosis factor-alpha in Zairian neonate plasmas: implications for perinatal infection with the human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1994; 169: 975-980.
 12. Duh EJ, Maury WJ, Folks TM, Fauci AS, Rabson AB. Tumor necrosis factor alpha activates human immunodeficiency virus type 1 through induction of nuclear factor binding to the NF-kappa B sites in the long terminal repeat. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 501-502.
 13. Muñoz-Fernández MA, Navarro J, García A, Punzón C, Fernández-Cruz E, Fresno M. Replication of human immunodeficiency virus-1 in primary human T cells is dependent on the autocrine secretion of tumor necrosis factor through the control of nuclear factor-kappa B activation. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 838-845.
 14. Vyakarman A, McKeating J, Meager A, Beverley PC. Tumor necrosis factors (alpha, beta) induced by HIV-1 in peripheral blood mononuclear cells potentiate virus replication. *AIDS* 1990; 4: 21-27.
 15. Bevilacqua MP. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 767-804.
 16. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87: 2095-2147.
 17. Puppo F, Brenci S, Scudeletti M, Lanza L, Bosco O, Indiveri F. Elevated serum levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in HIV infection. *AIDS* 1993; 7: 593-594.
 18. Most J, Zangerle R, Herold M, Fuchs D, Wachter H, Fritsch P et al. Elevated concentrations of circulating intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993; 6: 221-226.
 19. Tsujisaki M, Imai K, Hirata H, Hanzawa Y, Masuya J, Nakano T et al. Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 antigen in malignant diseases. *Clin Exp Immunol* 1991; 85: 3-8.
 20. Muñoz-Fernández MA, Obregón E, Navarro J, Börner C, Gurbindo MD, Sampelayo TH et al. Relationship of virologic, immunologic and clinical parameters in infants with vertically acquired human immunodeficiency virus type 1 infection. *Pediatr Res* 1996; 40: 597-602.
 21. CDCP. Center for Diseases Control Prevention. Revised classification system for HIV-1 infection in children less than 13 years of age. *MMWR* 1994; 43: 1-13.
 22. Resino S, Jiménez JL, Gurbindo D, Muñoz-Fernández MA. Marcadores predictivos de supervivencia en niños menores de 12 meses de edad infectados verticalmente por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)* 1999; 113: 561-566.
 23. Poli G, Kinter A, Justement JS, Kehrl JH, Bressler P, Stanley S et al. Tumor necrosis factor alpha functions in an autocrine manner in the induction of human immunodeficiency virus expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 782-795.
 24. Herbein G, Keshav S, Collin M, Montaner LJ, Gordon S. HIV-1 induces tumor necrosis factor and IL-1 gene expression in primary human macrophages independent of productive infection. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 442-449.
 25. Hestdal K, Aukrust P, Muller F, Lien E, Bjerkeli V, Espevik T et al. Dysregulation of membrane-bound tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors on mononuclear cells in human immunodeficiency virus type 1 infection: low percentage of p75-tumor necrosis factor receptor positive cells in patients with advanced disease and high viral load. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 963-967.
 26. Monno L, Zimatore GB, Di Stefano M, Appice A, Livrea P, Angarano G. Reduced concentrations of HIV-RNA and TNF-alpha coexist in CSF of AIDS patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67: 369-373.
 27. Mofenson LM, Korelitz J, Meyer WA 3rd, Bethel J, Rich K, Pahwa S et al. The relationship between serum human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA level, CD4 lymphocyte percent, and long-term mortality risk in HIV-1-infected children. National Institute of Child Health and Human Development Intravenous Immunoglobulin Clinical Trial Study Group. *J Infect Dis* 1997; 175: 1029-1038.
 28. Resino S, Gurbindo MD, Bellón JM, Sánchez-Ramón S, Muñoz-Fernández MA. Predictive markers of clinical outcome in vertically HIV-1 infected infants, a prospective longitudinal study. *Pediatr Res* 2000; 47: 1-7.
 29. Poli G, Fauci A. Role of cytokines in the pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. En: Aggarwal BB PR, editor. *Human cytokines: their role in disease and therapy*. Cambridge: Blackwell Scientific, 1995; 421-449.
 30. Matsuyama T, Kobayashi N, Yamamoto N. Cytokines and HIV infection: is AIDS a tumor necrosis factor disease? *AIDS* 1991; 5: 1405-1417.
 31. Resino S, Muñoz-Fernández MA. Marcadores predictivos de evolución de la infección pediátrica por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. *Acta Pediatr Esp* 2000 (en prensa).
 32. Feldmann M, Elliott MJ, Woody JN, Maini RN. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy of rheumatoid arthritis. *Adv Immunol* 1997; 64: 283-350.
 33. Meyer DM, Dustin ML, Carron CP. Characterization of intercellular adhesion molecule-1 ectodomain (sICAM-1) as an inhibitor of lymphocyte function-associated molecule-1 interaction with ICAM-1. *J Immunol* 1995; 155: 3578-3584.

34. McCabe SM, Riddle L, Nakamura GR, Prashad H, Mehta A, Berman PW et al. sICAM-1 enhances cytokine production stimulated by alloantigen. *Cell Immunol* 1993; 150: 364-375.
35. Bauerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 141-179.
36. Aukrust P, Svardal AM, Muller F, Lunden B, Berge RK, Frøland SS. Decreased levels of total and reduced glutathione in CD4+ lymphocytes in common variable immunodeficiency are associated with activation of the tumor necrosis factor system: possible immunopathogenic role of oxidative stress. *Blood* 1995; 86: 1383-1391.
37. Weber C, Erl W, Pietsch A, Strobel M, Ziegler-Heitbrock HW, Weber PC. Antioxidants inhibit monocyte adhesion by suppressing nuclear factor- kappa B mobilization and induction of vascular cell adhesion molecule-1 in endothelial cells stimulated to generate radicals. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1665-1673.
38. Wintergest U, Hoffmann F, Solder B, Notheis G, Petropoulou T, Eberle J et al. Comparison of two antiretroviral triple combinations including the protease inhibitor indinavir in children infected with human immunodeficiency virus. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17: 517-518.
39. Rohrer T, Rinaldi D, Bubl R, Engelcke G, Di Gallo A, Rudin C. Combined with zidovudine, lamivudine, nelfinavir and ganciclovir in an infant with human immunodeficiency virus type 1 infection and cytomegalovirus encephalitis: case report and review of the literature. *Pediatrics* 1999; 103: 1057-1060.
40. Aukrust P, Muller F, Lien E, Nordoy I, Liabakk NB, Kvale D et al. Tumor necrosis factor (TNF) system levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy: persistent TNF activation is associated with virologic and immunologic treatment failure. *J Infect Dis* 1999; 179: 74-82.