

Expertos Invitados

PATOGENIA, TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN DE LA NEFROPATÍA INFANTIL ASOCIADA AL VIH

Columnista Experto de SIIC
Dr. Pingato Tang

Director Renal Research Program, Children's Research Institute, and Children's National Medical Center, Washington D.C., EE.UU.

Introducción

Aproximadamente el 65% de todos los niños con infección por VIH-1 o sida en los Estados Unidos son afroamericanos.^{1,2} Durante la era previa a la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) más del 40% de los afroamericanos infectados por VIH experimentaba mayor cantidad de complicaciones renales que conducían a un lento crecimiento y a la progresión de la infección por VIH-1.³⁻¹⁵ Los pacientes infectados por VIH-1 corren riesgo de presentar insuficiencia renal aguda, glomerulopatías asociadas con trastornos inmunes, microangiopatías trombóticas asociadas al VIH y un síndrome renal denominado nefropatía asociada al VIH (NAVIH).³⁻⁷ Esta nefropatía fue descrita inicialmente en 1984 en pacientes infectados por VIH provenientes de Nueva York y Miami^{4,5} y se convirtió en una causa frecuente de enfermedad renal terminal (ERT) en los afroamericanos jóvenes.⁶⁻¹⁴ Esta nefropatía produce un impacto clínico adverso importante sobre la calidad de vida de los pacientes infectados por VIH. Lamentablemente, a pesar de los nuevos tratamientos antirretrovirales eficaces, seguimos viendo niños con diagnóstico reciente de NAVIH en los Estados Unidos. Por todas estas razones es necesario conocer los mecanismos básicos responsables de la patogenia de la NAVIH y prevenir esta enfermedad. En esta revisión, analizaremos las cuestiones patogénicas más pertinentes y los aspectos controversiales relacionados con la patogenia de la nefropatía infantil asociada al VIH.

Definición

Esta nefropatía se caracteriza clínicamente por la presencia de proteinuria importante, síndrome nefrótico y rápida progresión hasta la insuficiencia renal crónica y se observa típicamente en pacientes afroamericanos.^{6,7} Al inicio, estos pacientes no muestran edema ni hipertensión importante a pesar de la proteinuria considerable y de la enfermedad glomerular. No obstante, se puede observar a menudo edema e hipertensión durante los estadios tardíos de la enfermedad renal. La histología renal muestra glomérulos con esclerosis focal y segmentaria, hipertrofia e hiperplasia de las células epiteliales viscerales y lesiones tubulointersticiales caracterizadas por túbulos microquísticos llenos de material proteináceo y células mononucleares infiltrantes.⁹⁻¹³ Estos cambios tubulares microquísticos conducen a agrandamiento renal, hallazgo que contrasta con los pequeños riñones fibróticos observados en los casos típicos de pacientes con nefropatía crónica de otra etiología. Otro rasgo considerado característico de la NAVIH es la presencia de una glomerulopatía colapsante focal asociada con inclusiones tubuloreticulares en las células endoteliales y pérdida de diferenciación o proliferación de las células epiteliales glomerulares.⁹⁻¹¹ Sin embargo, los niños pueden mostrar sólo hiperplasia mesangial combinada con la dilatación tubular microquística al inicio de la proteinuria nefrótica.¹¹⁻¹⁴ Más aun, al parecer, la enfermedad

renal en los niños con pruebas histológicas de hiperplasia mesangial podría progresar a ritmo más lento cuando es comparada con aquella que muestra pruebas iniciales de glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS).^{12,13} No se determinó aún si la hiperplasia mesangial es el primer paso hacia la GEFS o, como alternativa, puede evolucionar como un proceso patogénico independiente asociado con la infección viral.

El virus VIH-1

Algunos artículos anteriores de revisión analizaron con gran detalle varios conceptos fundamentales relacionados con la estructura del virus VIH-1.^{1,2} Aquí sólo revisaremos algunas ideas importantes relacionadas con el genoma del VIH-1 que son necesarias para comprender los conceptos analizados en esta revisión. Se considera el virus VIH-1 un retrovirus porque lleva ARN y, como tal, es necesario que invierta el flujo de la información genética en las células infectadas para generar ADN, transcritos de ARN viral y proteínas virales. El genoma del VIH-1 contiene por lo menos nueve genes que producen proteínas virales.^{1,2} Estas proteínas están divididas en proteínas estructurales, reguladoras y accesorias. Tres proteínas estructurales forman la microcápside viral, producen enzimas involucradas en la transcripción del VIH o producen glucoproteínas de superficie que participan en la unión a la célula y la entrada en ella. Estas proteínas estructurales se denominan Gag, Pol y Env, respectivamente.^{1,2} Dos proteínas reguladoras denominadas Tat y Rev, son esenciales para la infección por VIH, su replicación, y para la regulación del corte y empalme de los transcritos de ARN del VIH.^{1,2} Por último, cuatro proteínas accesorias denominadas Nef, Vif, Vpu y Vpr, desempeñan papeles esenciales en la replicación del VIH y la infección de las células.^{1,2} La patogenia de la enfermedad renal ha sido relacionada desde el punto de vista patogénico por lo menos con cuatro de estas proteínas, Env, Tat, Nef y Vpr.¹⁶⁻²⁵ Explicaremos luego con más detalle su papel en la patogenia de la NAVIH.

Cambios proliferativos en el epitelio renal inducidos por el VIH-1

Como se explicó antes, un rasgo característico de la NAVIH es la presencia de riñones agrandados con microquistes renales y proliferación de las células epiteliales de los túbulos y los glomérulos.^{4,5,10-15} Sin embargo, los mecanismos patogénicos responsables de estas lesiones no se conocen de forma completa y han sido tema de muchos estudios y controversias. Una de las principales hipótesis actuales para explicar el modo en que el VIH-1 induce proliferación de las células epiteliales renales propone que VIH-1 puede inducir una infección productiva de los podocitos y las células epiteliales renales,²⁶⁻²⁹ y que la expresión de *nef* o *vpr* en estas células conduce a la estimulación directa de vías de señalización del huésped que llevan a la proliferación celular.²⁰⁻²² Sin embargo, esta hipótesis se basa en estudios *in vitro* realizados en el podocito murino inmortalizado condicionalmente y no está claro cómo se pueden aplicar estos hallazgos a la situación humana.²⁰⁻²² Algunos estudios más recientes han sugerido que las células epiteliales parietales glomerulares son células en proliferación en el paciente que presenta una glomerulopatía colapsante asociada al VIH.¹⁵ Además, quedan varios interrogantes sin respuesta. Se desconoce el modo en que el VIH-1 puede inducir una infección productiva de las células epiteliales renales humanas *in vivo*. Algunos investigadores no pudieron detectar transcritos de ARN de HIV-1 en células epiteliales renales provenientes de pacientes con NAVIH.³⁰⁻³³ Tampoco está claro de qué modo los bajos niveles y el patrón focal de la infección por VIH-1 detectados en cortes renales de la NAVIH²⁶⁻²⁹ pueden explicar los cambios epiteliales proliferativos difusos observados en estos pacientes.

Proliferación de células epiteliales renales en ratones transgénicos para VIH (VIH-Tg)

La observación clave inicial que sugirió que los genes del VIH-1 eran responsables de inducir cambios proliferativos directos en células epiteliales renales se generó en el modelo VIH-Tg₂₆.³⁴ Estos ratones poseen una estructura defectuosa de ADN proviral de VIH-1, d1443, que carece de una secuencia de 3 kb que superpone las secuencias *gag* y *pol*,^{35,36} por lo tanto el VIH-1 no puede replicarse en estos ratones. Los ratones VIH-Tg₂₆ nacen con riñones normales y muestran transcritos de ARN de VIH-1 en las células epiteliales glomerulares y tubulares.³⁴⁻³⁶ Las ratas VIH-

Tg que tienen una estructura similar del ARN de VIH-1 también presentan cambios renales similares.³⁷⁻³⁸ Sobre la base de estos hallazgos, se utilizaron estos modelos transgénicos para explorar los mecanismos básicos por medio de los cuales el VIH-1 induce la proliferación de células epiteliales renales e identificar los productos virales involucrados en este proceso.^{19-22,34-39} Sin embargo, se obtuvieron diferentes resultados según se utilizaran células epiteliales renales primarias o inmortalizadas provenientes de estos modelos.^{20-22,35-40}

Nosotros observamos que el primer estadio de la enfermedad renal se caracteriza por la presencia de lesión del epitelio tubular renal correlacionado con los altos niveles de expresión de los genes del VIH-1 en estas células.^{34,38} Además, nuestros hallazgos en células primarias apoyan la hipótesis de que los cambios proliferativos del epitelio renal constituyen un acontecimiento tardío en la patogenia de la enfermedad renal.^{34,38} Estos cambios proliferativos tardíos parecen ser impulsados, al menos en parte, por el aumento de los proteoglucanos de heparán sulfato renales y la acumulación de factores de crecimiento que fijan heparina.^{34,38} En concordancia con la idea de que el VIH-1 induce primero lesión renal, Brugeman y col. comunicaron que la activación de la expresión de los genes del VIH-1 mediante irradiación ultravioleta inducía apoptosis en células del epitelio tubular de VIH-Tg₂₆.³⁹ En conjunto, estos estudios sugieren firmemente que la activación directa de genes de HVI-1 en el epitelio tubular primario de VIH-Tg₂₆ disminuye su velocidad de crecimiento o induce apoptosis.

Por oposición a estos hallazgos, los podocitos y las células epiteliales renales inmortalizadas condicionalmente tomadas de ratones VIH-Tg₂₆ endogámicos con ratones *immortomouse*, que portan el antígeno T SV-40 termosensible [ts-SV-40-T] inducible por interferón, tuvieron cambios proliferativos notables siempre que se activaban genes VIH-1.²⁰⁻²² Además, estos estudios identificaron al gen *nef* como causa de los cambios proliferativos.²⁰⁻²² Sin embargo, incluso bajo estas condiciones, los efectos promotores del crecimiento del gen *nef* requieren cofactores adicionales presentes en el suero o la matriz extracelular de células confluentes. Globalmente, quedan varias preguntas por responder para validar la hipótesis de que el gen *nef* induce cambios proliferativos directos en las células epiteliales renales humanas. Por ejemplo, no está claro si las células epiteliales renales humanas expresan niveles importantes de la proteína Nef y si las células epiteliales renales primarias humanas responden al gen *nef* de forma similar a las células epiteliales murinas inmortalizadas condicionalmente.

Finalmente, algunos estudios recientes en ratones transgénicos sugirieron que la expresión de los genes del VIH-1 en los podocitos aislados puede conducir al espectro completo de la NAVIH.²⁵ Sin embargo, estos estudios deben ser interpretados con precaución dado que estos ratones transgénicos expresan niveles muy altos de genes del VIH-1, y no se sabe si tales niveles de expresión del gen del VIH representan verdaderamente la situación clínica de los pacientes infectados por VIH. Por último, la presencia de microquistes tubulares en niños infectados por VIH sin evidencia histológica de lesión de los podocitos sugiere firmemente que las células epiteliales del túbulo renal podrían ser afectadas de modo independiente de los cambios en los podocitos.

Papel de los factores renales locales en la patogenia de la NAVIH

Se cita a menudo un estudio crítico de Bruggeman y col. como prueba firme de que los factores renales locales por sí solos son suficientes para la presentación de la NAVIH.³⁹ Este estudio muestra que los riñones de ratones VIH-Tg₂₆ trasplantados a ratones silvestres evolucionan a NAVIH, mientras que los riñones de ratones silvestres trasplantados a ratones VIH-Tg₂₆ no presentan la nefropatía.³⁹ Sin embargo, debemos señalar que este estudio no descarta la posibilidad de que algunos factores circulantes puedan desempeñar un papel en la patogenia de la NAVIH. En todos los modelos de VIH-Tg, se pasa por alto el proceso infeccioso inicial y la respuesta inmune del huésped y, por lo tanto, las células renales intrínsecas no sufren el impacto de la respuesta inmune sistémica. Además, las células endoteliales del ratón parecen no ser permisivas para la expresión de transcritos de ARN de VIH-1,^{40,41} y los ratones VIH-Tg₂₆ no presentan inclusiones tuborreticulares en las células endoteliales renales, lesión característica observada en los seres humanos con NAVIH que se sabe es producida por la respuesta endotelial inmunitaria del huésped al virus. Más aun, los ratones VIH-Tg₂₆ no liberan proteínas virales en la circulación y sus

células mononucleares no producen las proteínas Env o Tat del VIH.³⁴⁻³⁶

En conjunto, estos hallazgos sugieren que el endotelio de los ratones VIH-Tg₂₆ no es afectado por la presencia de transcritos virales, proteínas virales circulantes ni la respuesta inmune del huésped al VIH-1. Esta situación contrasta mucho con la situación clínica observada en los niños infectados por VIH, que frecuentemente presentan una lesión endotelial progresiva secundaria a la respuesta inmune del huésped, infecciones oportunistas o el reclutamiento renal de células infectadas por VIH y proteínas virales circulantes.⁴²⁻⁴⁶ Por lo tanto, los riñones de ratones silvestres normales trasplantados en animales VIH-Tg₂₆ no están expuestos a los efectos tóxicos potenciales de los productos virales circulantes, o las células mononucleares activadas o infectadas. Además, las células epiteliales renales de animales VIH-Tg₂₆ pueden sufrir las consecuencias directas de la expresión de los genes del VIH-1 aun en ausencia de otros factores que son esenciales para permitir la infección o la lesión de las células epiteliales humanas.

Por último, vale la pena mencionar que no todos los ratones que expresan altos niveles de genes del VIH-1 en las células epiteliales renales presentan nefropatía. Gharavi y col. elaboraron híbridos F1 de VIH-Tg₂₆FVB/N con otras cinco cepas de ratones endogámicos y observaron una notable variación del fenotipo renal de los ratones VIH-Tg₂₆.⁴⁷ Estos hallazgos demuestran una fuerte influencia genética que modula el resultado del fenotipo de la NAVIH en los ratones transgénicos y apoyan la idea de que además de los genes del VIH-1, otros factores genéticos o ambientales todavía desconocidos son esenciales para el desarrollo del fenotipo completo de la NAVIH en los seres humanos.⁴⁸ Existe poco desacuerdo en la comunidad científica en relación con el concepto de que los antecedentes genéticos desempeñan un papel clave en la patogenia de la NAVIH. En resumen, muchos datos experimentales sugieren firmemente que los factores renales locales por sí solos no son suficientes para inducir el fenotipo completo de la NAVIH.

Papel de las proteínas virales circulantes y los factores de crecimiento fijadores de heparina

La activación y la disfunción de las células mononucleares o endoteliales infectadas por el VIH son eventos patogénicos importantes en la progresión del sida.⁴²⁻⁴⁶ Los niños infectados por VIH a menudo desarrollan una lesión endotelial progresiva y crónica secundaria a la respuesta inmunitaria del huésped y a la presencia de infecciones oportunistas. Estos cambios aumentan la activación y la adhesión de las células mononucleares a las células endoteliales. Ambos tipos celulares pueden liberar múltiples citocinas y proteínas virales en la circulación sistémica o el riñón y estos factores circulantes pueden inducir una lesión renal por sí solos. Por ejemplo, Shirai y col. mostraron que los ratones VIH-Tg₂₆ inmunizados con gp160 purificada recombinante mostraban una disminución del edema, la proteinuria y las concentraciones de BUN en suero.¹⁶ Estos autores sugirieron que su esquema de inmunización protegía a estos ratones contra los efectos adversos renales potenciales de gp160;^{16,17} sin embargo, hasta lo que sabemos, esta interesante hipótesis no ha sido probada y sus hallazgos con la inmunización no han sido reproducidos por otros grupos. Como alternativa, los niveles circulantes del factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF-2) básico están aumentados en los pacientes infectados por VIH-1 y se correlacionan con la progresión del sida⁴⁵ y el desarrollo de la NAVIH.⁴⁶ El FGF-2 es miembro de la familia de los factores de crecimiento de los fibroblastos que fijan heparina y ha sido implicado en la patogenia del sarcoma de Kaposi del sida.^{49,50} Algunos estudios anteriores mostraron que el FGF-2 participa en el desarrollo renal, la angiogénesis, la regeneración tubular y la progresión de varias nefropatías en seres humanos y roedores.⁵⁰⁻⁶² El FGF-2 es producido por casi todos los tipos de células renales intrínsecas^{50,59-62} y por los linfocitos T y los macrófagos.⁵³ El FGF-2 carece de un péptido señal para la secreción, pero puede ser liberado por mecanismos no convencionales,^{49,50} que incluyen lesión celular, apoptosis, citocinas y proteasas liberadas por células infectadas por VIH o activadas. Una vez que el FGF-2 es liberado en el espacio extracelular, su actividad biológica es disminuida por su estrecha unión a los proteoglucanos de heparán sulfato.⁵⁰ De esta forma, el FGF-2 se puede acumular potencialmente en el tejido renal y puede ser protegido de la degradación proteolítica. Tanto las células endoteliales lesionadas como las células mononucleares infectadas por VIH pueden liberar FGF-2 en la circulación de los pacientes infectados por VIH.^{45,46}

En 1994, nosotros informamos una acumulación importante de FGF-2 en el túbulo-intersticio de ratones VIH-Tg₂₆ con enfermedad renal en estadio tardío.³⁴ Estos cambios se asociaron con un aumento de los proteoglucanos de heparán sulfato y el desarrollo de notables lesiones proliferativas del epitelio tubular renal.³⁴ Estos hallazgos proporcionaron la primera prueba clara de que los riñones infectados por VIH podían actuar como una piletta que atrapaba factores de crecimiento fijadores de heparina liberados en la circulación o por células que infiltraban el riñón. Así, los proteoglucanos de heparán sulfato pueden actuar como un reservorio bioactivo que potencia la acumulación y la actividad de los factores de crecimiento fijadores de heparina en el riñón; cortes renales provenientes de niños con NAVIH muestran un aumento considerable de los proteoglucanos de heparán sulfato renales y acumulación de FGF-2.⁴⁶ Más recientemente, Tang y col. mostraron que el FGF-2 aumenta el reclutamiento renal y la fijación de las células mononucleares infectadas por VIH a las células epiteliales del túbulo renal *in vivo*,⁶² y que el FGF-2 aumenta la unión de las células mononucleares infectadas por VIH a células epiteliales del túbulo renal primarias cultivadas obtenidas de niños con infección por VIH y nefropatía.⁶² En conjunto, estos estudios sugieren que el FGF-2 puede tener un nuevo papel inmunomodulador y de infectividad renal en la patogenia de la nefropatía infantil asociada al VIH. En apoyo de este concepto, Conaldi y col. mostraron que la proteína Tat del VIH aumenta la proliferación de los podocitos humanos cultivados al inducir la liberación de FGF-2 de su superficie celular.¹⁸ Estos hallazgos apoyan firmemente la hipótesis de que los proteoglucanos de heparán sulfato, VIH-Tat y FGF-2 desempeñan papeles sinérgicos en la patogenia de la nefropatía infantil asociada al VIH. Otro mecanismo que puede liberar tanto FGF-2 como VIH-Tat de sus sitios de almacenamiento de proteoglucanos de heparán sulfato es la digestión de los glucosaminoglucanos por proteasas y heparanasas.^{50,60,61} Estas enzimas son liberadas por las células mononucleares de sangre periférica infectadas por VIH o activadas, pero se desconoce su papel en la patogenia de la NAVIH. Más recientemente, describimos que FGF-2 puede ser liberado por su unión a una proteína fijadora del factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF-BP-1) que está aumentada en las células epiteliales del túbulo renal de niños con NAVIH.⁶³⁻⁶⁴ En conjunto, al menos cuatro mecanismos diferentes pueden explicar la acumulación de FGF-2 en el riñón de niños infectados por VIH con nefropatía: 1) la liberación de FGF-2 en la circulación por las células endoteliales lesionadas o las células inflamatorias activadas, 2) la unión del factor de crecimiento que fija heparina a los proteoglucanos de heparán sulfato renales, 3) la liberación de FGF-2 de las membranas basales y las células del túbulo renal en regeneración, 4) el aumento de FGF-BP-1 en las células epiteliales tubulares en proliferación y las células mononucleares que infiltran el riñón.

Papel de los proteoglucanos de heparán sulfato en la infección por VIH

En 1998 proporcionamos la primera prueba de que se podía provocar una infección productiva *in vitro* de las células epiteliales del túbulo renal humano obtenidas de niños infectados por VIH cuando eran expuestas a aislados de VIH-1 primarios obtenidos de niños con NAVIH.⁶⁵ Sin embargo, es necesario señalar que se requirió una carga viral elevada para infectar estas células y no pudimos identificar un correceptor importante del VIH-1 que participara en este proceso. Conaldi y col. confirmaron nuestros hallazgos en células epiteliales del túbulo renal obtenidas de pacientes VIH-negativos, pero atribuyeron el proceso infeccioso a la presencia de altos niveles de proteína CD4 sobre la superficie de estas células.⁶⁶ En los estudios de seguimiento, ni otros autores ni nosotros pudimos detectar niveles importantes de receptores CD4 sobre las células epiteliales del túbulo renal y, por lo tanto, no quedan claros los mecanismos por medio de los cuales el VIH-1 entra en las células epiteliales del túbulo renal humano.⁶⁷⁻⁷¹ Es tentador especular que los proteoglucanos de heparán sulfato pueden facilitar el ingreso del VIH-1⁷²⁻⁷⁴ a las células epiteliales renales a través de vías endocíticas, como se demostró en células endoteliales cultivadas.⁷⁷ Los proteoglucanos de heparán sulfato también pueden aumentar la infectividad del VIH-1 al facilitar la unión de este virus a la superficie celular.⁷⁴⁻⁸⁴ La afinidad de la proteína de la envoltura del VIH-1 gp120 por la heparina depende de la conservación de su bucle V3 y está influida firmemente por la carga del bucle V3.⁷⁶ Por lo tanto, el VIH-1 puede utilizar los proteoglucanos de heparán sulfato como receptores de unión de baja afinidad para rastrear en la superficie celular receptores

específicos para la entrada.^{79,80} En apoyo de este concepto, algunos polianiones solubles como heparina, sulfato de dextrán y polisulfato de pentosán pueden neutralizar la infección por VIH-1 *in vitro*.^{75,76} La infección por virus X4 parece ser más sensible a la inhibición por sulfato de dextrán que la infección por virus R5.⁷³⁻⁷⁶ Como alternativa, otras quimiocinas involucradas en la patogenia del sida (p. ej., SDF-1 α , RANTES y M1F1- β) también pueden unirse a proteoglucanos de heparán sulfato y modular el proceso de infección por VIH.^{71,78-85} El VIH-Tat también puede imitar la acción de estas quimiocinas, puede unirse a la heparina con una afinidad similar a FGF-2⁸³⁻⁸⁴ y requiere proteoglucanos de heparán sulfato para la internalización.⁸⁵ Globalmente, es tentador especular que los proteoglucanos renales pueden actuar como una piqueta que atrapa quimiocinas y VIH-1 de la circulación y de esta forma podría acelerar la progresión de la NAVIH.

Papel del VIH-Tat y los proteoglucanos de heparán sulfato en la NAVIH

El producto genético Tat es un factor de transcripción,⁸⁶ pero también puede ser liberado en la circulación por células infectadas y captado por células no infectadas.⁸⁷ El Tat liberado en el espacio extracelular (ecTat) puede inducir la proliferación de muchos tipos celulares.⁸⁸⁻⁹⁰ Como señalamos antes, los proteoglucanos de heparán sulfato pueden actuar como receptores para la captación de ecTat. Este evento podría conducir a la activación del VIH-1 en las células mononucleares.⁷¹ Se sabe que todas las actividades biológicas de Tat *in vitro*, como inducción de crecimiento celular, migración e invasión, son aumentadas por las bajas concentraciones de heparina e inhibidas por sus altas concentraciones, como se demostró para FGF-2 y otros factores de crecimiento que fijan heparina.⁸⁸⁻⁹⁰ De forma similar, las citocinas liberadas por las células infectadas por VIH (es decir, interferón γ , factor de necrosis tumoral α e interleuquina 2) pueden inducir la síntesis o la liberación de FGF-2 y VEGF-A, un poderoso factor de crecimiento angiogénico y de permeabilidad.⁹⁰⁻⁹² Estos factores actúan sinérgicamente con Tat, probablemente a través de la activación de las integrinas $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_5\beta_1$ y las metaloproteinasas (MMP) MMP-2 y MMP-9.⁹⁰⁻⁹³ Una vez activadas, las MMP pueden desplazar el FGF-2 ligado a los proteoglucanos de heparán sulfato e inducir la proliferación de células.⁹² Debemos señalar que los podocitos, al contrario de las células epiteliales del túbulo renal, tienen una capacidad *in vivo* limitada para sufrir división nuclear y citocinesis en respuesta al FGF-2.⁹³⁻⁹⁴

Muchas de estas células pueden mantenerse en la fase G1 tardía del ciclo celular.⁹⁴ Por lo tanto, es tentador especular que cuando los podocitos diferenciados son inducidos a volver a entrar en el ciclo celular bajo la influencia de VIH-Tat o FGF-2, podrían sufrir cambios en el citoesqueleto que conducen a su desprendimiento, desdiferenciación, proliferación o muerte celular.⁹⁴ De esta forma, VIH-ecTat puede alterar aun más la capacidad de los podocitos para responder a FGF-2. Los podocitos de afroamericanos infectados por VIH o de pacientes con predisposición genética a la nefropatía⁴⁸ pueden ser más sensibles a los efectos de FGF-2 y VIH-Tat. Los estudios futuros deben identificar los factores genéticos y ambientales que podrían aumentar potencialmente los efectos adversos de las proteínas del VIH y los factores de crecimiento que fijan heparina en los pacientes infectados por VIH.

Pronóstico y futuro

En la era previa a la TARGA, los niños con NAVIH progresaban muy rápidamente hasta la enfermedad renal terminal o morían en menos de 2 años.^{12,13} Actualmente, la institución temprana de TARGA conduce a la reducción de la carga viral y mejora el pronóstico de todas las enfermedades marcadoras del sida y prolonga la vida de los niños infectados por VIH.¹⁴ Aproximadamente el 5% de los niños afroamericanos infectados por VIH tratados con TARGA en nuestra institución, localizada en Washington DC, muestran pruebas clínicas o histológicas de NAVIH.¹⁴ La TARGA parece ser un tratamiento promisorio para prevenir el desarrollo o disminuir la progresión de la nefropatía.^{95,96} Debido a la TARGA algunos de estos niños pueden tolerar las pérdidas de proteínas en la orina sin presentar edema ni enfermedad renal terminal.¹⁴ Además, el uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) puede proporcionar beneficios terapéuticos adicionales.⁹⁷ Por lo tanto, si los adelantos terapéuticos conducen a una mejoría importante en las tasas de supervivencia, la prevalencia de la NAVIH en los pacientes infectados

puede aumentar siempre que estos niños se tornen resistentes a la TARGA o no adhieran al tratamiento. El aumento de la prevalencia de pacientes infectados por VIH que se encuentran en la etapa previa a la enfermedad renal terminal o en ella en los Estados Unidos podría convertirse en un problema importante de salud pública. Estos pacientes correrán un riesgo elevado de morir por infecciones relacionadas con el VIH y complicaciones cardiovasculares y se desconocen las consecuencias cardiovasculares a largo plazo del uso de TARGA en los niños. Por último, los resultados promisorios comunicados en los receptores de trasplante renal infectados por VIH son alentadores.^{98,99} Sin embargo, hasta ahora, se sometieron a trasplante principalmente pacientes con otros tipos de nefropatías asociadas al VIH y no está claro si los pacientes con NAVIH responderán de forma similar. Además, sólo se consideran para el trasplante renal pacientes infectados por VIH muy seleccionados.^{98,99} Estos pacientes mostraban una adhesión excelente a la TARGA, ausencia de inmunosupresión grave ($CD4 > 200$ células/ μ l), viremia no detectable (< 50 copias de ARN de VIH-1/ml), ausencia de enfermedad marcadora de sida, tuvieron una reconstitución inmune exitosa después de la TARGA y no presentaron infecciones virales activas por lo menos durante los seis meses previos al trasplante renal. Lamentablemente, estos pacientes no son representativos de la población de infectados por VIH que se someten a diálisis en los Estados Unidos. Más aun, en la población pediátrica será difícil encontrar pacientes con NAVIH que reúnan estos criterios estrictos para el trasplante renal. Por lo tanto, la rápida identificación y el tratamiento inmediato de las mujeres embarazadas infectadas por VIH debe seguir siendo una prioridad absoluta para prevenir la transmisión infantil del VIH-1 y la nefropatía infantil asociada al VIH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fauci SA. HIV and AIDS. 20 years of science. *Nature Med* 9:839-843, 2003.
2. Gallo RC. Human retrovirus after 20 years; a perspective from the past and prospects for their future control. *Immunol Rev* 185:236-265, 2002.
3. Rao TKS, Friedman EA, Nicastrì AD. The types of renal disease in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 16:1062-1068, 1987.
4. Rao TK, Filippone EJ, Nicastrì AD, Landesman SH, Frank S, Chen CK, Friedman EA. Associated focal and segmental glomerulosclerosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 310:669-673, 1984.
5. Pardo V, Aldana M, Colton RM, Fischl MA, Jaffe D, Moskowitz L, et al. Glomerular lesions in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 101:429-434, 1984.
6. Pardo V, Meneses R, Ossa L, Jaffe DJ, Strauss J, Roth D, et al. AIDS-related glomerulopathy. Occurrence in specific risk groups. *Kidney Int* 31:1167-1173, 1987.
7. Kopp JB, Winkler C. HIV-associated nephropathy in African Americans. *Kidney Int* 83:S43-S49, 2003.
8. Freedman BI, Soucie JM, Stone SM, Pegram S. Familial clustering of end stage renal disease in blacks with HIV-associated nephropathy. *Am J Kidney Dis* 34:254-258, 1999.
9. Barisoni L, Kriz W, Mundel P, D'Agati V. The dysregulated podocyte phenotype: A novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 10:51-61, 1999.
10. Bourgoignie JJ, Pardo V. The nephropathology in HIV-1 virus infection. *Kidney Int* 40(35):S19-S23, 1991.
11. D'Agati V, Appel GB. HIV infection and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 8:138:152, 1997.
12. Strauss J, Abitol C, Zilleruelo G, Scott G, Paredes A, Malaga S, et al. Renal disease in children with acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 321:625-630, 1989.
13. Ray PE, Rakusan T, Loechelt BJ, Selby DM, Liu XH, Chandra RS. HIV-1 associated nephropathy in children from the Washington, D.C. area: 12 years' experience. *Semin Nephrol* 18:396-405, 1998.
14. Ray PE, Xu L, Rakusan T, Liu XH. A 20-year history of childhood HIV-associated nephropathy. *Pediatr Nephrol* 19:1075-1092, 2004.
15. Dijkman HB, Weening JJ, Smeets B, Verrijp KC, Van Kuppevelt TH, Assmann KK, et al. Proliferating cells in HIV and pamidronate-associated collapsing focal segmental glomerulosclerosis are parietal epithelial cells. *Kidney Int* 70:388-344, 2006.
16. Shirai A, Klinman DM. Immunization with recombinant gp160 prolongs the survival of HIV-transgenic mice. *AIDS Res and Hum Retroviruses* 9:979-983, 1993.

17. Singhal PC, Sagar S, Chandra D, Garg P. Human immunodeficiency virus-1 gp120 and gp160 envelope proteins modulate mesangial cell gelatinolytic activity. *Am J Pathol* 147:25-32, 1995.
18. Conaldi PG, Botelli A, Baj A, Serra C, Fiore L, Federico G, et al. Human Immunodeficiency virus-1 Tat induces hyperproliferation and dysregulation of renal glomerular epithelial cells. *Am J Pathol* 161:53-61, 2002.
19. Hanna Z, Kay DG, Rebai N, Guimond A, Jothy S, Jolicoeur P. Nef harbors a major determinant of pathogenicity for an AIDS-like disease induced by HIV-1 in transgenic mice. *Cell* 95:163-175, 1998.
20. Husain M, Gussella GL, Klotman ME, Gelman IH, Ross MD, Schwartz EJ, et al. HIV-1 Nef induces proliferation and anchorage-independent growth in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 13:1806-1815, 2002.
21. Sunamoto M, Husain M, He JC, Schwartx EJ, Klotman PE. Critical role for Nef in HIV-1 induced podocyte dedifferentiation. *Kidney Int* 64:1695-1701, 2003.
22. He JC, Husain M, Sunamoto M, D'Agati VD, Klotman ME, Iyengar R, et al. Nef stimulates proliferation of glomerular podocytes through activation of Src-dependent Stat3 and MAPK1,2 pathways. *J Clin Invest* 114:643-651, 2004.
23. Dickie P, Roberts A, Uwiera R, Witmer J, Sharma K, Kopp JB. Focal glomerulosclerosis in proviral c-fms transgenic mice links Vpr expression to HIV-associated nephropathy. *Virology* 322:69-81, 2004.
24. Jowett JB, Planelles V, Poon B, Shah NP, Chen ML, Chen IS. The human immunodeficiency virus type 1 vpr gene arrests infected T cells in the G2 + M phase of the cell cycle. *J Virol* 69:6304-6313, 1995.
25. Zhong J, Zuo Y, Ma J, Fogo AB, Jolicoeur P, Ichikawa I, et al. Expression of HIV-1 genes in podocytes alone can lead to the full spectrum of HIV-1 associated nephropathy. *Kidney Int* 68:1048-1060, 2005.
26. Cohen AH, Sun NCJ, Shapshak P, Imagawa DT. Demonstration of human immunodeficiency virus in renal epithelium in HIV-associated nephropathy. *Mod Pathol* 1:87-97, 1989.
27. Bruggeman LA, Ross MD, Tanji N, Cara A, Dikman S, Gordon RE, et al. Renal epithelium is a previously unrecognized site of HIV-infection. *J Am Soc Nephrol* 11:2089-2087, 2000.
28. Marras D, Bruggeman LA, Gao F, Tanji N, Mansukhani MM, Cara A, et al. Replication and compartmentalization of HIV-1 in the kidney epithelium of patients with HIV-associated nephropathy. *Nat Med* 8:522-526, 2002.
29. Wintson JA, Bruggeman LA, Ross MD, Jacobson L, Ross L, D'Agati VD, et al. Nephropathy and establishment of a renal reservoir of HIV type 1 during primary infection. *N Engl J Med* 344:1979-1984, 2001.
30. Di Belgiosjoso GB, Genderini A, Vago L, Parravicini C, Bertoli S, Landriani N. Absence of HIV antigens in renal tissue from patients with HIV-associated nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 5:489-492, 1990.
31. Alpers CR, McClure J, Bursten SL. Human mesangial cells are resistant to productive infection by multiple strains of human immunodeficiency virus types 1 and 2. *Am J Kidney Dis* 19:126-130, 1992.
32. Eitener F, Cui Y, Hudkins KL, Anderson DM, Schmidt A, Morton WR, Alpers CE. Chemokine receptor (CCR5) expression in human kidneys and in the HIV infected macaque. *Kidney Int* 54:1945-1954, 1998.
33. Eitner F, Cui Y, Hudkins KL, Stokes MB, Segerer S, Mack M, et al. Chemokine receptor CCR5 and CXCR4 expression in HIV-associated kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 11:856-867, 2000.
34. Ray PE, Bruggeman L, Weeks B, Kopp J, Bryant J, Owens J et al. Role of bFGF and its low affinity receptors in the pathogenesis of HIV-associated nephropathy in transgenic mice. *Kidney Int* 46:759-772, 1994.
35. Dickie P, Felser J, Eckhaus M, Bryant J, Silver J, Marinov N, et al. HIV-associated nephropathy in transgenic mice expressing HIV-1 genes. *Virology* 185:109-119, 1991.
36. Kopp JB, Klotman ME, Adler SH, Bruggeman LA, Dickie P, Marinov NJ, et al. Progressive glomerulosclerosis and enhanced renal accumulation of basement membrane components in mice transgenic for human immunodeficiency virus type 1 genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1577-1581, 1992.
37. Reid W, Sadowska M, Denaro R, Rao S, Foulke Jr J, Hayes N, et al. An HIV-1 transgenic rat that develops HIV-related pathology and immunology dysfunction. *Proc Natl Acad Sci* 98:9271-9276, 2001.
38. Ray PE, Liu XL, Robinson RL, Reid W, Xu L, Owens JW, et al. A novel HIV-1 transgenic rat model of childhood HIV-1 associated nephropathy. *Kidney Int* 63:2242-2253, 2003.
39. Bruggeman LA, Dikman S, Meng C, Quaggin SE, Coffman TM, Klotman PE. Nephropathy in human immunodeficiency virus-1 transgenic mice is due to renal transgene expression. *J Clin Invest* 100:84-92, 1997.
40. Tinkle BT, Ngo L, Luciw PA, Maciag T, Jay G. Human Immunodeficiency Virus-associated vasculopathy in transgenic mice. *J Virol* 71:4809-4814, 1997.
41. Tinkle BT, Ueda H, Ngo L, Luciw PA, Shaw K, Rosen CA, et al. Transgenic dissection of HIV-genes involved in lymphoid depletion. *J Clin Invest* 100:32-39, 1997.
42. Zietz C, Hotz B, Sturz M, Rauch E, Penning R, Lohrs U. Aortic endothelium in HIV-1 infection. Chronic injury, activation and increased leukocyte adherence. *Am J Pathol* 149:1887-1898, 1996.
43. Bussolino F, Mitola S, Serini G, Barillari G, Ensoli B. Interactions between endothelial cells and HIV-1. *Int J Biochem Cell Biol* 33:371-390, 2001.
44. Gilles PN, Lathey JL, Spector SA. Replication of macrophage-tropic and T-cell-tropic strains of Human Immunodeficiency Virus type 1 is augmented by macrophage-endothelial cell contact. *J Virol* 69:2133-2139, 1995.
45. Ascheri G, Sgadari C, Bugarini R, Bogner J, Schatz O, Ensoli B, et al. Serum concentration of fibroblast growth factor 2 are increased in HIV-1 type-infected patients and inversely correlated to survival probability. *AIDS Res Hum Retroviruses* 17:1035-1039, 2001.
46. Ray PE, Liu XL, Xu L, Rakusan T. Accumulation of bFGF in children with HIV-1 associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 13:586-593, 1999.
47. Gharavi AG, Ahmad T, Wong RD, Hooshyar R, Vaughn J, Oller S, et al. Mapping a locus for susceptibility to HIV-1 associated nephropathy to mouse chromosome 3. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:2488-2493, 2004.
48. Kim JM, Wu H, Green G, Winkler CA, Kopp JB, Miner JH, et al. CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 300:1298-1300, 2003.
49. Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G. Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor. *Endocrine Reviews* 8:95-114, 1987.
50. Wellstein A, Czubayko F. Inhibition of fibroblast growth factors. *Breast Cancer and Res Treatment* 38:109-119, 1996.
51. Ensoli B, Gendelman R, Markham P, Fiorelli V, Colombinin S, Raffeld M, et al. Synergy between basic FGF and HIV-1 Tat protein in induction of Kaposi's sarcoma. *Nature* 371:674-680, 1994.

52. Li Z, Jerebtsova M, Liu XH, Tang P, Ray PE. Novel cystogenic role of basic fibroblast growth factor in developing rodent kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol* 291:F289-F296, 2006.
53. Peoples GE, Blotnick S, Takahashi K, Freeman MR, Klagsbrun M, Eberlein TJ. T lymphocytes that infiltrate tumors and atherosclerotic plaques produce heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and basic fibroblast growth factor: a potential pathologic role. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:6547-6551, 1995.
54. Celli G, LaRoche J, Mackem S, Sharp R, Merlino G. Soluble dominant-negative receptor uncovers essential roles for fibroblast growth factors in multi-organ induction and patterning. *EMBO J* 17:1642-1655, 1998.
55. Clayton A, Thomas J, Thomas GJ, Davies M, Steadman R. Cell surface heparan sulfate proteoglycans control the response of renal interstitial fibroblasts to fibroblast growth factor-2. *Kidney Int* 59:2084-2094, 2001.
56. Sasaki T, Jyo Y, Tanda N, Kawakami Y, Nohno T, Tamai H, et al. Changes in glomerular epithelial cells induced by FGF-2 and FGF-2 neutralizing antibody in puromycin aminonucleoside nephropathy. *Kidney Int* 51:301-309, 1999.
57. Kriz W, Hahnel B, Rosener S, Elger M. Long term treatment of rats with FGF-2 results in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 48:1435-1450, 1995.
58. Morita H, Shinzato T, David G, Mizutani A, Habuchi H, Fujita Y, et al. Basic fibroblast growth factor-binding of heparan sulfate in the human glomerulosclerosis and renal tubulointerstitial fibrosis. *Lab Invest* 71:528-535, 1984.
59. Floege J, Kriz W, Schulze M, Susani M, Kerjaschki D, Mooney A, et al. Basic fibroblast growth factor augments podocytes injury and induces glomerulosclerosis in rats with experimental membranous nephropathy. *J Clin Invest* 96:2809-2819, 1995.
60. Naparstek Y, Cohen IR, Fuks Z, Vlodavsky I. Activated T lymphocytes produce a matrix-degrading heparan sulphate endoglycosidase. *Nature* 252:241-244, 1984.
61. Bashkin P, Doctrow S, Klagsbrun M, Svahan CM, Folkman J, Vlodavsky I. Basic Fibroblast growth factor binds to subendothelial extracellular matrix and is released by heparitinase and heparin-like molecules. *Biochemistry* 28:1737-1743, 1989.
62. Tang P, Jerebtsova M, Przygodzki R, Ray PE. Fibroblast growth factor-2 increases the renal recruitment and attachment of HVI-infected mononuclear cells to renal tubular epithelial cells. *Pediatr Nephrol* 20:1708-1716, 2005.
63. Czubayko F, Liadet-Coopman ED, Aigner A, Tuveson AT, Berchem GJ, Wellstein A. A secreted FGF-binding protein can serve as the angiogenic switch in human cancer. *Nat Med* 3:1137-1140, 1997.
64. Liu XH, Achim A, Xu L, Wellstein A, Ray PE. Up-regulation of a fibroblast growth factor binding protein in children with renal diseases. *Kidney Int* 59:1850-1858, 2001.
65. Ray PE, Liu XH, Henry D, Dye L, Xu L, Orenstein JM, et al. Infection of human primary renal epithelial cells with HIV-1 from children with HIV-associated nephropathy. *Kidney Int* 53:1217-1229, 1998.
66. Conaldi PG, Biancone L, Botelli A, Wasde-Evans A, Racusen LC, Boccellino M, et al. HIV-1 kills renal tubular epithelial cells in vitro by triggering an apoptotic pathway involving caspase activation and fas upregulation. *J Clin Invest* 102:2041-2049, 1998.
67. Ray PE, Garcia Soler A, Xu L, Soderland C, Blumenthal R, Puri A. Fusion of HIV-1 envelope expressing cells to human glomerular endothelial cells through a CXCR4 mediated mechanism. *Pediatr Nephrol* 20:1401-1409, 2005.
68. Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 co-receptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu Rev Immunol* 17:657-700, 1999.
69. Liu XH, Hadley TJ, Xu X, Peiper SC, Ray PE. Up-regulation of Duffy antigen receptor expression in children with renal disease. *Kidney Int* 55:1491-1500, 1999.
70. Mack M, Kleinschmidt A, Bruhl H, Klier C, Nelson PJ, et al. Transfer of the chemokine receptor CCR5 between cells by membrane-derived microparticles: A mechanism for cellular human immunodeficiency virus 1 infection. *Nature Med* 6:769-775, 2000.
71. O'Donnell MP, Chao CC, Gekker G, Modi KS, Kasiske BL, Keane WF. Renal cell cytokine production stimulates HIV-1 expression in chronically HIV-infected monocytes. *Kidney Int* 53:593-597, 1998.
72. Patel M, Yanagishita M, Roderiquez G, Bou-Habib DC, Oravec T, Hascall VC, et al. Cell-surface heparan sulfate proteoglycans mediates HIV-1 infection of T-cell lines. *AIDS Res Hum Retroviruses* 9:167-174, 1993.
73. Roderiquez G, Oravec T, Yanagishita M, Bou-Habbi DC, Mostowski H, Norcross MA. Mediation of Human Immunodeficiency Virus-type 1 binding by interaction of cell surface Heparan Sulfate Proteoglycans with the V3 region of envelope gp120-gp41. *J Virol* 69:2233-2239, 1995.
74. Mondor I, Ugolini S, Sattentau QJ. Human immunodeficiency virus type 1 attachment to HeLa CD4 Cells is CD independent and gp120 dependent and requires cell surface heparan sulfate proteoglycans. *J Virol* 72:3623-3634, 1998.
75. Moulard M, Lortat-Jacob H, Mondor I, Roca G, Wyatt R, Sodroski J, et al. Selective interactions of polyanions with basic surfaces on HIV-1 gp120. *J Virol* 74:1948-1960, 2000.
76. Saphire ACS, Bobardt MD, Zhang Z, David G, Gallay PA. Syndecans serve as attachment receptors for Human Immunodeficiency virus type 1 on macrophages. *J Virol* 75:9187-9200, 2001.
77. Argyris EG, Acheampong E, Nunnari G, Mukhtar M, Williams KJ, Pomerantz RJ. Human immunodeficiency virus type 1 enters primary human brain microvascular endothelial cells by a mechanism involving cell surface proteoglycans independent of lipid rafts. *J Virol* 77:12140-12151, 2003.
78. Oravec T, Pall M, Wang J, Roderiquez G, Ditto M, Norcross MA. Regulation of anti-HIV-1 activity of RANTES by heparan sulfate proteoglycans. *J Immunol* 159:4587-4592, 1997.
79. Ibrahim J, Griffin P, Coombe DR, Rider CC, James W. Cell-surface heparan sulfate facilitates human immunodeficiency virus Type 1 entry into some cells lines but not primary lymphocytes. *Virus Res* 60:159-169, 1999.
80. Bobardt MD, Saphire HC, Yu X, Schueren Van Der, Zhang Z, David G, et al. Syndecan captures, protects, and transmits HIV to T lymphocytes. *Immunity* 18:27-39, 2003.
81. Gordon CJ, Muesing MA, Proudfoot AE, Power CA, Moore JP, Trkola A. Enhancement of HIV-type 1 infection by the CC-chemokine RANTES is independent of the mechanism of virus-cell fusion. *J Virol* 73:684-694, 1999.
82. Schols D, Struyf S, Van Damme J, Este JA, Henson G, De Clercq E. Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4. *J Exp Med* 186:1383-1343, 1997.
83. Albin A, Ferrini S, Benelli R, Sforzini S, Giunciuglio D, Aluigi MG, Proudfoot AEI, et al. HIV-1 Tat protein mimicry of chemokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13153-13158, 1998.

84. Tyago M, Rusnati M, Presta M, Giacca M. Internalization of HIV-1 Tat requires Cell surface heparan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem* 276:3254-3261, 2001.
85. Rusnati M, Tulipano G, Urbinati C, Tanghetti E, Giuliani R, Giacca M, et al. The Basic Domain in HIV-1 Tat protein as a target for polysulfonated heparin-mimicking extracellular Tat antagonist. *J Biol Chem* 273(26):16027-16037, 1998.
86. Bieniasz PD, Grdina TA, Bogerd HP, Cullen BR. Recruitment of a protein complex containing Tat and cyclin T1 to TAR governs the species specificity of HIV-1 Tat. *EMBO J* 23:7056-7065, 1998.
87. Westendorp MO, Frank R, Ochsenbauer C, Sticker K, Dhein J, Walczak H, et al. Sensitization of T cells to CD95-mediated apoptosis by HIV-Tat and gp120. *Nature* 375:497-500, 1995.
88. Jia H, Lohr M, Jezequel S, Davis D, Shaikh S, Selwood D, et al. Cysteine-rich and basic domain HIV-1 Tat peptides inhibit angiogenesis and induce endothelial cell apoptosis. *Biochem Biophys Res Comm* 283:469-479, 2001.
89. Boykins RA, Mahieux R, Shankavaram UT, Gho YS, Lee SF, Hewlett IK, et al. A short polypeptide domain of HIV-1 Tat proteins mediates pathogenesis. *J Immunol* 163:15-20, 1999.
90. Barillari G, Sgadari C, Fiorelli V, Samaniego F, Colombini S, Manzari V, et al. The Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 promotes vascular cell growth and locomotion by engaging the $\alpha 5 \beta 1$ and $\alpha v \beta 3$ integrins and by mobilizing sequestered basic-FGF. *Blood* 94:663-672, 1999.
91. Toschi E, Barillari G, Sgadari C, Bacigalupo I, Cereseto A, Carlei D, et al. Activation of matrix-metalloproteinase-2 and membrane-type-1-matrix-metalloproteinase in endothelial cells and induction of vascular permeability in vivo by human immunodeficiency virus-1 Tat protein and basic fibroblast growth factor. *Mol Biol Cell* 12:2934-2946, 2001.
92. Mohan R, Sivak J, Ashton P, Russo LA, Pham BQ, Kasahara N, et al. Circuminoids inhibit the angiogenic response stimulated by fibroblast growth factor-2, including expression of matrix metalloproteinase gelatinase B. *J Biol Chem* 275:10405-10412, 2000.
93. Takeuchi A, Yoshizawa N, Yamamoto M, Sawasaki Y, Oda T, Senoo A, et al. Basic Fibroblast Growth Factor promotes proliferation of rat glomerular visceral epithelial cells in vitro. *Am J Pathol* 141:107-116, 1992.
94. Sasaki T, Hatta H, Osawa G. Cytokines and podocyte injury: the mechanism of fibroblast growth factor-2 induced podocyte injury. *Nephrol Dial Transpl* 14:33-34, 1999.
95. Szczech LA, Edwards LJ, Sanders LL, Van der Horst C, Bartlett JA, Heald AE, et al. Protease inhibitors are associated with a slowed progression of HIV-related renal diseases. *Clin Nephrol* 57:336-341, 2002.
96. Schwartz EJ, Szczech LA, Ross MJ, Klotman ME, Winston JA, Klotman PE. Highly active antiretroviral therapy and the epidemic of HIV+ end stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 16:2412-2420, 2005.
97. Wei A, Burns GC, Williams BA, Mohammed NB, Sivak SL. Long term renal survival in HIV-associated nephropathy with angiotensin-converting enzyme inhibition. *Kidney Int* 64:1462-1471, 2003.
98. Kumar MS, Sierka DR, Damask AM, Fyfe B, McAlack RF, Heifets M, Moritz MJ, et al. Safety and success of kidney transplantation and concomitant immunosuppression in HIV-positive patients. *Kidney Int* 67:1622-1629, 2005.
99. Bhagani S, Sweny PI, Brook K, British HIV association. Guidelines for kidney transplantation in patients with HIV disease. *HIV Medicine* 7:133-139, 2006.

● CARACTERÍSTICAS DE LA TUBERCULOSIS DE TIPO ADULTO EN LOS NIÑOS



Columnista Experto de SIIC
Dr. B.J Marais

Associate professor, Parow, Sudáfrica

Introducción

De los 8.3 millones de nuevos casos estimados de tuberculosis (TB) diagnosticados globalmente en el año 2000, se calcula que 884 019 (11%) fueron niños.¹ Los niños en las regiones endémicas implican una carga enorme de enfermedad por TB,² la cual pocas veces es apreciada debido a las dificultades diagnósticas y a la mala calidad de los registros.³ Los niños pequeños pocas veces presentan TB con frotis de esputo positivo y como los esfuerzos por controlar la TB en las regiones endémicas se concentran primariamente en los casos más infecciosos, los niños a menudo son excluidos de las prácticas de registro y notificación de rutina. Es importante registrar la morbimortalidad asociada con la TB infantil porque el tratamiento es barato y eficaz. Además, la TB infantil es el resultado de transmisión reciente y, por lo tanto, la carga de la TB infantil refleja el nivel de control de la TB logrado en una comunidad particular.⁴ Las pautas más recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan que los programas nacionales de TB incluyan a los niños en las estadísticas nacionales de TB.⁵ Esto debe proporcionar datos más amplios sobre

la TB infantil en el futuro. Una encuesta comunitaria amplia llevada a cabo en Ciudad del Cabo, Sudáfrica, indicó que el 13.7% de los casos ingresados en el registro de TB eran niños menores de 13 años, después de validar el diagnóstico de TB, se calculó que la incidencia corregida de TB infantil en esta comunidad era de 407/100 000/año.⁶

Este manuscrito proporciona un breve panorama general de la diversidad de presentaciones clínicas observadas en los niños con TB y hace especial hincapié en la TB de tipo adulto.

Diversidad de presentaciones clínicas

La TB infantil muestra un amplio espectro diverso de presentaciones histopatológicas, con perfiles de enfermedad definidos dependientes de la edad⁷ (Figura 1). La infección primaria por *Mycobacterium tuberculosis* tiene lugar habitualmente cuando un niño inhala gotitas vaporizadas infecciosas, lo que conduce a un proceso neumónico localizado, denominado foco primario (de Ghon). A partir del foco de Ghon, los bacilos drenan a través de los linfáticos locales hacia los ganglios linfáticos regionales. Los lóbulos superiores drenan hacia los ganglios paratraqueales homolaterales, mientras que el resto del pulmón drena hacia los ganglios perihiliares. La combinación del foco de Ghon (con cierta reacción pleural suprayacente o sin ella) y la afección de los ganglios linfáticos regionales se denomina complejo de Ghon. La progresión de la enfermedad puede tener lugar en el sitio de depósito del microorganismo (foco de Ghon), dentro de los ganglios linfáticos regionales o luego de la propagación de la enfermedad⁸ (Figura 2).

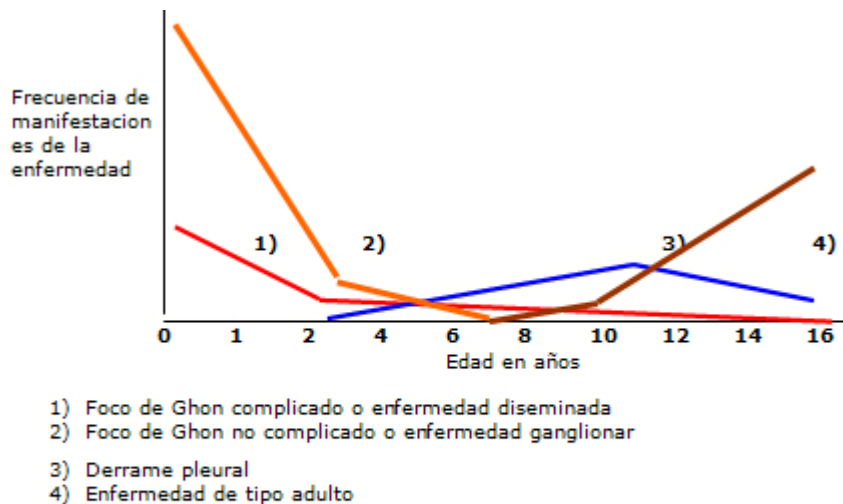


Figura 1: Manifestaciones relacionadas con la edad de la TB intratorácica en los niños, documentadas durante la era previa a la quimioterapia*
 Adaptado de Marais BJ y col. - Diversity of disease manifestations in childhood pulmonary tuberculosis⁷

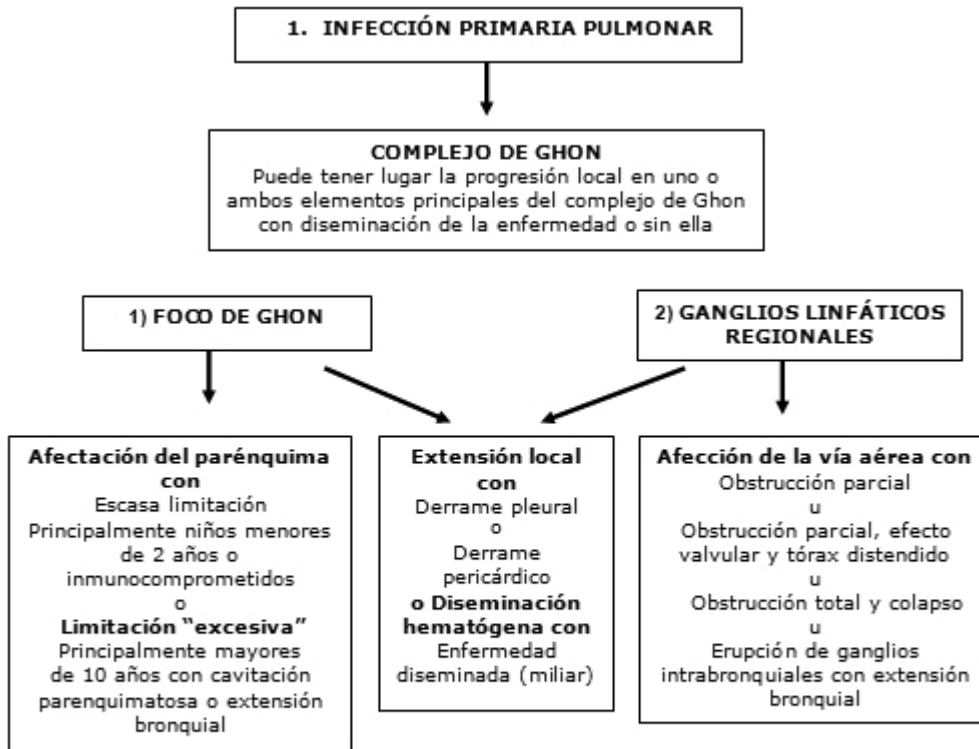


Figura 2. Diagrama de ilustración de la progresión potencial de la enfermedad luego de la infección pulmonar primaria por *M. tuberculosis**
Adaptado de Marais BJ y col. A proposed radiological classification of childhood intrathoracic tuberculosis⁸

La enfermedad cavitaria en los niños puede ser resultado de tres procesos anatomopatológicos distintos. Dentro del foco de Ghon la limitación suele ser satisfactoria, pero la progresión de la enfermedad puede ser resultado de una limitación escasa o "excesiva". 1) Una limitación escasa y la proliferación sin restricciones del microorganismo pueden producir daño parenquimatoso excesivo, con ruptura final del foco de Ghon. Los lactantes y los niños VIH positivos, que tienen escasas respuestas de inmunidad celular, son más vulnerables a este tipo de cavitación, denominada enfermedad por foco de Ghon complicado⁸ (Figura 3). 2) La aspiración de bacilos virulentos luego de la erupción de una adenopatía en una vía aérea puede conducir a un proceso neumónico en expansión con destrucción del parénquima y formación de cavidades. Los niños menores de 5 años son más vulnerables a presentar esta manifestación de la enfermedad debido al agrandamiento exuberante de los ganglios linfáticos y al tamaño relativamente pequeño de sus vías aéreas⁸ (Figura 4). Por el contrario, los niños inmunocompetentes mayores de 10 años parecen montar una respuesta inmunitaria "excesiva" (nociva) en un intento por contener al microorganismo, lo que conduce a una enfermedad de tipo adulto⁸ (Figura 5).

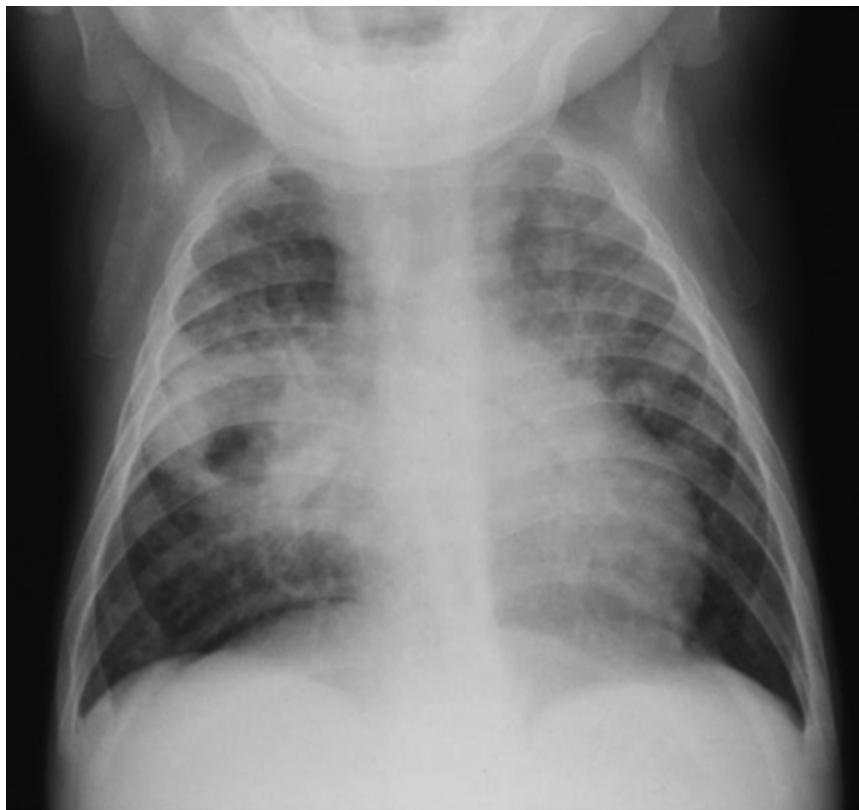


Figura 3. Foco de Ghon con escasa limitación con cavitación y extensión bronquial bilateral. (Adaptado de Marais BJ y col. *A proposed radiological classification of childhood intrathoracic tuberculosis.*)⁸

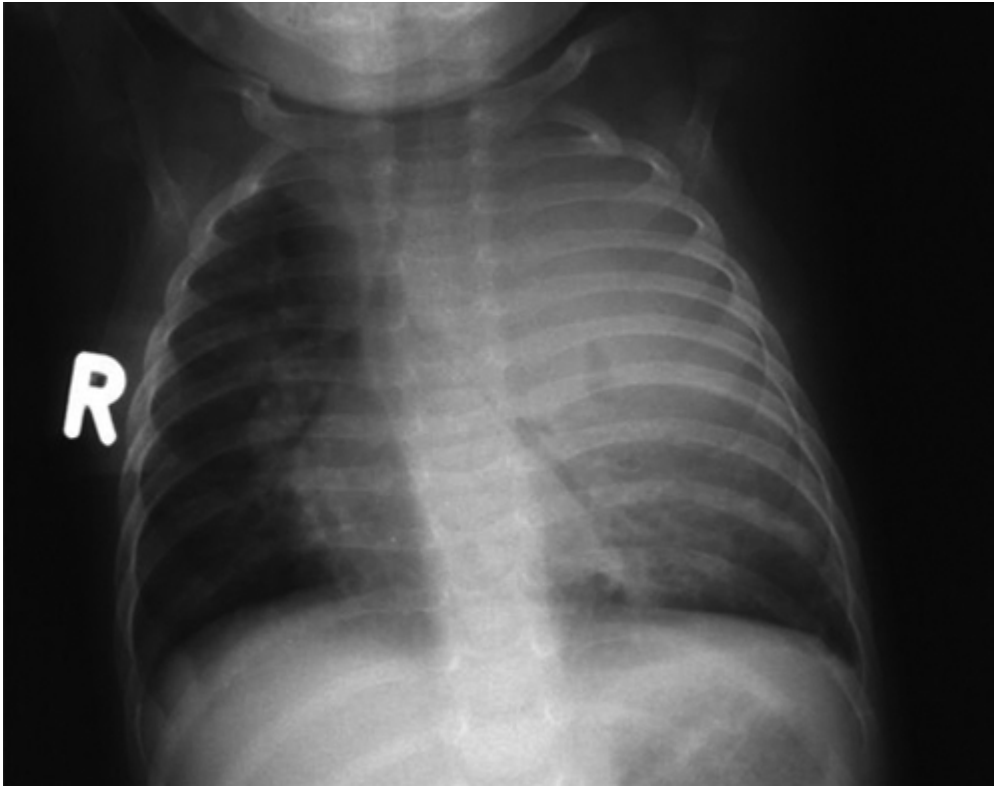


Figura 4. Compresión ganglionar de la tráquea y el bronquio fuente izquierdo; neumonía caseosa con consolidación alveolar expansiva del lóbulo superior izquierdo y área de destrucción del parénquima. (Adaptado de Marais BJ y col. *A proposed radiological classification of childhood intrathoracic tuberculosis.*)⁸



Figura 5. Enfermedad de tipo adulto con múltiples cavidades en el lóbulo superior izquierdo y extensión bronquial hasta el lóbulo superior derecho. (Adaptado de Marais BJ y col. *A proposed radiological classification of childhood intrathoracic tuberculosis.*)⁸

Para ver la frecuencia de las distintas manifestaciones de la enfermedad en perspectiva, la tabla 1 refleja la diversidad de enfermedades documentadas en una encuesta comunitaria de todos los niños menores de 13 años tratados por TB en zonas de alta endemia.⁹ Aunque sólo se documentó enfermedad de tipo adulto en el 5% de los niños tratados por TB, es probable que se trate de una subestimación importante ya que la edad de corte utilizada (menores de 13 años) habría excluido muchos niños adolescentes con enfermedad de tipo adulto.¹⁰

Tabla 1. Espectro de la enfermedad documentado en una encuesta comunitaria prospectiva de todos los niños menores de 13 años, tratados por TB en un área de alta endemia.*

| Manifestación de la TB | Total (%) N=439 |
|---|--------------------|
| <u>Sin TB</u> | 85 (19.4) |
| <u>TB intratorácica</u> | 307 (69.9) |
| Foco de Ghon | |
| No complicado (con adenopatía hilar o sin ella) | 16/307 (5.2) |
| Complicado | 3/307 (1.0) |
| Enfermedad ganglionar | |
| No complicada | 147/307 (47.9) |
| Complicada | |
| Compresión | 25/307 (8.1) |
| Consolidación | 62/307 (20.6) |
| Pleuresía | 24/307 (7.8) |
| Pericarditis | 1/307 (0.3) |
| Enfermedad diseminada (miliar) | 15/307 (4.9) |
| Enfermedad de tipo adulto | 14/307 (4.6) |
| <u>TB extratorácica</u> | 72 (16.4) |
| Linfadenitis periférica | |
| Cervical | 35/72 (48.6) |
| Otra | 1/72 (1.4) |
| TB del sistema nervioso central | 14/72 (19.4) |
| Meningitis | 2/72 (2.8) |
| Tuberculoma | 1/72 (1.4) |
| TB abdominal | 4/72 (5.6) |
| TB osteoarticular | 7/72 (9.7) |
| Espondilitis vertebral | 8/72 (11.1) |
| Otra | |
| Piel | [25 (5.7)] |
| [TB intratorácica + extratorácica] | |

TB – Tuberculosis

Sin TB – Radiografía de tórax no sugestiva de TB (confirmado de forma independiente por dos expertos en TB infantil), sin prueba bacteriológica ni histológica y sin TB extratorácica registrada

[TB intratorácica + extratorácica] – Los niños con TB intratorácica y extratorácica fueron incluidos en ambos grupos y por lo tanto se debe deducir esta cantidad para llegar a un total de 439 o del 100%

*Adaptado de Marais BJ y col. - *The spectrum of disease in children treated for tuberculosis in a highly endemic area*¹¹

Enfermedad de tipo adulto

Historia natural

Algunos estudios realizados en la era previa a la quimioterapia documentaron la historia natural de la enfermedad en los niños.¹¹ El riesgo máximo y el intervalo temporal más corto desde la infección hasta la enfermedad de tipo adulto tuvieron lugar durante la adolescencia, sobre todo en las niñas en el período que rodea la menarca.¹¹ La progresión de la enfermedad habitualmente tenía lugar dentro de los 2 años (en algunos casos dentro de los 4 meses) de la infección primaria y comenzaba con síntomas mínimos como tos, pérdida de apetito y fatiga, antes de que se hicieran aparentes los síntomas típicos de la TB que incluían tos crónica, dolor torácico, somnolencia, anorexia y pérdida de peso.¹⁰ Los niños con enfermedad avanzada presentaban anemia y mostraban fiebre oscilante y hemoptisis. Un síntoma frecuente, aun en ausencia de fiebre, eran los sudores nocturnos. En la radiografía de tórax era típica una sombra homogénea redondeada inicial de 2-3 cm de diámetro situada en la vecindad de la clavícula, seguida por la destrucción del parénquima y la formación de cavidades. Estas afectaban principalmente los segmentos apicales de los lóbulos superiores e inferiores, no contenían líquido y característicamente estaban rodeadas por inflamación y fibrosis. Sin tratamiento, el pronóstico de la enfermedad de tipo adulto era malo; el 50% al 60% de los niños fallecía dentro de los 5 años del inicio de la enfermedad.¹¹

Presentación

Una serie de casos de los últimos años informó hallazgos clínicos en 8 niños de 10-15 años que recibieron el diagnóstico de TB de tipo adulto en el nivel de atención primaria.¹² Durante un período de vigilancia de 3 meses se diagnosticó un total de 65 casos de TB con frotis de esputo positivo, de los cuales 7 (10.8%) eran niños de 10 a 14 años. Un niño con derrame pleural grande tenía un frotis de esputo negativo, pero en los otros 6 el esputo fue positivo. La relación hombre:mujer fue 2:6 y ninguno de estos niños estaba infectado por VIH. En la bibliografía previa a la quimioterapia está bien documentado que las niñas suelen contraer TB de tipo adulto a una edad menor que los varones.¹⁰ La mayoría (6/8; 75.0%) informó el contacto conocido con un caso fuente con frotis de esputo positivo en los 6-18 meses precedentes y todos asistían todavía a la escuela.¹²

La tabla 2 describe su presentación clínica y las características de la enfermedad.¹² Dos niños informaron haber tenido eritema nodoso en el año anterior, que probablemente representó una respuesta de hipersensibilidad luego de la infección primaria por *M. tuberculosis*. Los niños con enfermedad de tipo adulto tuvieron frotis de esputo positivos, lo que indicó una carga elevada de microorganismos y alto riesgo de transmisión. Con el uso del tratamiento combinado en dosis fijas estándar se observó la resolución completa de los síntomas dentro de los 2 meses. Sólo una niña que presentaba una enfermedad extensa informó la resolución incompleta de los síntomas, pero mostró mejoría sintomática y radiológica importante, así como conversión del esputo. Ninguno de los niños tuvo TB resistente a las drogas.

Tabla 2

Tratamiento

Las variables principales que influyen en el éxito de la quimioterapia, además de la resistencia primaria a las drogas, son la carga bacteriana y la distribución anatómica de los bacilos.¹³ La enfermedad cavitaria indica una carga bacteriana alta, lo que implica mayor riesgo de resistencia aleatoria a las drogas. Desde la perspectiva de la salud pública, los niños con TB pueden ser categorizados en tres grupos: 1) enfermedad con frotis de esputo negativo, 2) enfermedad con frotis de esputo positivo (a menudo cavitaria) y 3) enfermedad diseminada (miliar).

La enfermedad con frotis de esputo negativo habitualmente es paucibacilar y, por lo tanto, el riesgo de resistencia a las drogas es bajo. La penetración de las drogas en los sitios anatómicos es buena y está bien establecido el éxito con tres drogas (isoniazida [INH], rifampicina [RMP], pirazinamida [PZA]) durante la fase intensiva de 2 meses, y con dos drogas (INH, RMP) durante la fase de continuación de 4 meses.¹³ En presencia de una enfermedad radiológica extensa con cavitación o sin ella, o de la sospecha de resistencia a INH, se debe considerar el uso de etambutol (EMB) agregado a las tres drogas durante la fase intensiva. Una vez completada esta fase de inducción, se puede lograr la erradicación exitosa del microorganismo con la terapia intermitente (2-3 veces/semana) durante la fase de consolidación.¹³

La enfermedad con frotis de esputo positivo implica una carga elevada de microorganismos y mayor riesgo de resistencia aleatoria a las drogas.¹³ La selección de mutantes resistentes a las drogas es una preocupación particular, en la que prevalece la monorresistencia a la INH, ya que esto aumenta la probabilidad de seleccionar microorganismos resistentes a múltiples drogas. El uso de cuatro drogas (INH, RMP, PZA, EMB) durante la fase intensiva de 2 meses debe reducir este riesgo. Una vez reducida suficientemente la carga de microorganismos, es suficiente la terapia intermitente (2-3 veces/semana) con INH y RMP durante la fase de continuación de 4 meses para asegurar la erradicación del microorganismo. Sin embargo, se debe tener precaución cuando la respuesta inicial a la terapia no ha sido óptima y en los pacientes infectados por VIH.¹³

La enfermedad diseminada (miliar) se asocia a menudo con afección del sistema nervioso central (SNC).¹³ Por lo tanto, es esencial considerar la penetración en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de las drogas utilizadas en el tratamiento de la enfermedad diseminada (miliar). La INH y la PZA penetran bien en el LCR. La RMP y la estreptomocina penetran poco en LCR, pero pueden lograr

niveles terapéuticos en presencia de inflamación meníngea. El valor de la estreptomina está limitado por la escasa penetración en LCR y la administración intramuscular. El EMB apenas penetra en LCR, incluso en presencia de inflamación meníngea y no tiene ninguna eficacia demostrada en el tratamiento de la meningitis tuberculosa.¹³

Se desarrolló un diagrama de flujo (Figura 6) para guiar la clasificación de los pacientes individuales y su tratamiento.⁷ Se basa en la respuesta a 5 preguntas simples. 1) ¿Está el niño expuesto o infectado por *M. tuberculosis*? 2) ¿Tiene el niño una infección activa? 3) Si el niño está expuesto o infectado, pero no tiene TB activa, ¿está indicada la quimioterapia preventiva? 4) Si el niño tiene TB activa, ¿cuál es el régimen terapéutico apropiado? 5) ¿Se debe considerar alguna circunstancia especial, como infección por VIH, repetición del tratamiento o exposición a un caso fuente resistente a drogas?

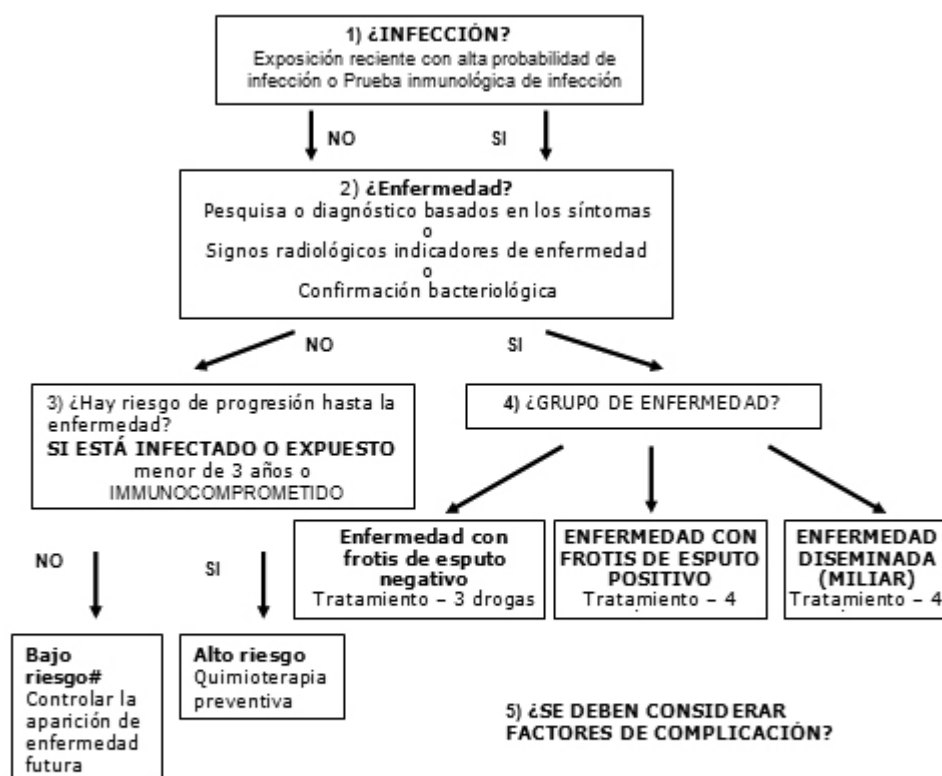


Figura 6. Diagrama de flujo para guiar el diagnóstico y el tratamiento apropiado de los niños con posible TB*

*En las regiones no endémicas donde el riesgo de reinfección es bajo y donde la erradicación de la TB es una meta alcanzable, sería conveniente proporcionar tratamiento preventivo a todos los individuos con una infección documentada por TB

*Adaptado de Marais BJ y col. - *Childhood pulmonary tuberculosis: Old wisdom and new challenges*^{2,3}

Mecanismos potenciales

La sorprendente observación de que la TB de tipo adulto sólo aparece cuando los niños ingresan en la pubertad exige una explicación. La manifestación clínica de cualquier enfermedad infecciosa depende del equilibrio entre la patogenicidad del microorganismo y la competencia inmunitaria del huésped. En la tuberculosis, se agrega una dimensión dinámica importante a este equilibrio, porque la limitación inicial del microorganismo pocas veces asegura su erradicación.⁷ El equilibrio delicado y dinámico que se establece entre el patógeno y el huésped puede ser influido por muchas variables⁷ (Figura 7). La persistencia de los bacilos inactivos en el interior de focos secuestrados (infección latente) proporciona un riesgo "siempre presente" de reactivación toda vez que el equilibrio se desplace a favor del microorganismo. Además del riesgo de reactivación luego de la

infección primaria previa, los altos niveles de transmisión implican un riesgo constante de reinfección en contextos con altas cargas de bacilos.^{4,5} La enfermedad de tipo adulto puede ser el resultado de infección primaria reciente o puede seguir a la reactivación o a la reinfección.

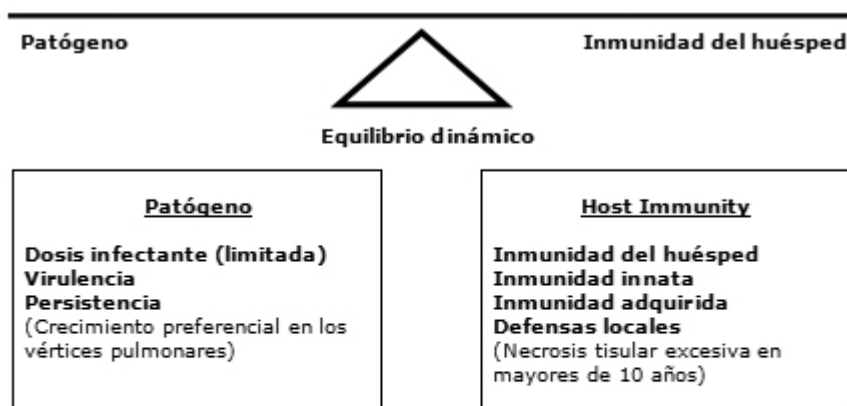


Figura 7. Diagrama de ilustración para demostrar el equilibrio dinámico entre el patógeno (*M. tuberculosis*) y la inmunidad del huésped*

Patrocinio: Empleado por las distintas instituciones que se han mencionado

*Adaptado de Marais BJ y col. - *Diversity of disease manifestations in childhood pulmonary tuberculosis*⁷

En la TB, la variación de la dosis infectante parece de escasa importancia. Sólo es probable que las gotitas más pequeñas de aerosol, que contienen menos de 5 bacilos, alcancen las vías aéreas terminales y establezcan la infección; las gotas más grandes no son inhaladas (dado que es menos probable que queden suspendidas en el aire) o son depositadas en las vías aéreas proximales donde la infección es resistida de forma efectiva.⁷ Se conoce poco el efecto de las infecciones múltiples y la virulencia variable de los microorganismos. Se puede concebir que la virulencia fenotípica del microorganismo pueda estar afectada por la condición del frotis de esputo del caso fuente o por la exposición a factores ambientales como irradiación ultravioleta o desecamiento.⁷ También está bien documentada la variación genética en la virulencia, pero ninguna de estas variables explicaría la aparición súbita de la enfermedad de tipo adulto alrededor de la pubertad.⁷ La inmunidad del huésped incluye la respuesta inmune innata y adquirida y las defensas pulmonares locales. La protección que proporciona la respuesta inmune innata es limitada, ya que los bacilos crecen sin limitaciones en el interior de los macrófagos vírgenes y la diseminación oculta es frecuente luego de la infección primaria.⁷ La inmunidad celular adquirida tiene importancia crucial para contener efectivamente al microorganismo. Como la enfermedad de tipo adulto aparece primero alrededor de la pubertad y se desarrolla relativamente poco (en la mayoría de los casos en 6 a 18 meses) después de la exposición; indica que en esta edad parece un mecanismo probable el "cambio hacia" una limitación inapropiada de una infección reciente. Aunque la maduración inmunitaria tiene lugar durante toda la infancia, los cambios principales relacionados con la limitación efectiva de *M. tuberculosis* parecen presentarse alrededor de los 2 años de edad [cuando la enfermedad diseminada (miliar) se vuelve mucho menos frecuente] y alrededor de la pubertad (cuando aparece por primera vez la enfermedad de tipo adulto).¹⁰ Los cambios hormonales que tienen lugar alrededor de la pubertad pueden ser un factor importante en la patogenia alterada, pero algunos elementos de la respuesta adquirida de la inmunidad celular parecen convertirse en una espada de dos filos; aunque es esencial para esta limitación de la enfermedad, la necrosis tisular excesiva puede ayudar a la presencia de las cavidades parenquimatosas.⁷

Este elemento destructivo de la respuesta inmune puede permitir al microorganismo aprovechar plenamente un microambiente favorable. Esto puede explicar la vulnerabilidad particular de los vértices pulmonares; 1) la proliferación de *M. tuberculosis* es aumentada por un ambiente rico en

oxígeno y la tensión de oxígeno en el pulmón es máxima en los vértices, 2) aunque puede contribuir también el escaso flujo sanguíneo y la disminución de la formación de linfa en estas regiones.⁷ Así, la combinación de intentos destructivos al limitar el microorganismo junto con mayor supervivencia y proliferación del microorganismo en los vértices pulmonares, pueden iniciar un círculo vicioso de destrucción parenquimatosa. Esta hipótesis explicaría la aparición súbita de tuberculosis de tipo adulto alrededor de la pubertad, así como su localización anatómica.⁷

Conclusión

A pesar de nuestro conocimiento incompleto de los mecanismos subyacentes a la enfermedad, la aparición de enfermedad de tipo adulto en niños adolescentes tiene importantes consecuencias para la salud pública. La mayoría de estos niños pueden ser diagnosticados con la microscopia de rutina del frotis de esputo en el nivel de atención primaria. El diagnóstico tardío plantea un riesgo importante de transmisión a la comunidad, sobre todo para sus compañeros de escuela^{14,15} y los miembros de la familia; por lo tanto, se debe realizar un frotis de esputo sin demora en todos los niños mayores de 10 años que presentan síntomas sospechosos de TB. Se debe considerar la pesquisa de los contactos cercanos y contar con las medidas preventivas, sobre todo para aquellos que corren alto riesgo de presentar enfermedad activa luego de la exposición, como en el caso de los contactos familiares que son niños muy pequeños.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nelson LJ, Wells CD. Global epidemiology of childhood tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 8:636-647, 2004.
2. Chintu C, Mudenda V, Lucas S et. al. Lung diseases at necropsy in African children dying from respiratory illnesses: a descriptive necropsy study. *Lancet* 360:985-990, 2002.
3. Donald P R. Childhood tuberculosis: out of control? *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 8:178-182, 2002.
4. Schaaf HS, Marais BJ, Hesselning AC, Gie RP, Beyers N, Donald PR. Childhood drug-resistant tuberculosis in the Western Cape Province of South Africa. *Acta Paediatrica* 95:523-528, 2006.
5. World Health Organization. Guidance for National Tuberculosis Programmes on the Management of Tuberculosis in Children. WHO, Geneva, Switzerland. WHO/HTM/TB/2006.371.
6. Marais BJ, Hesselning AC, Gie RP, Schaaf HS, Beyers N. The burden of childhood tuberculosis and the accuracy of community-based surveillance data. *Int J Tuberc Lung Dis* 10:259-263, 2006.
7. Marais BJ, Donald PR, Gie RP, Schaaf HS, Beyers N. Diversity of disease manifestations in childhood pulmonary tuberculosis. *Ann Trop Paed* 25:79-86, 2005.
8. Marais BJ, Gie RP, Starke JR et al. A proposed radiological classification of childhood intra-thoracic tuberculosis. *Ped Rad* 33:886-894, 2004.
9. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS et. al. The spectrum of disease in children treated for tuberculosis in a highly endemic area. *Int J Tuberc Lung Dis* 10:732-738, 2006.
10. Weber HC, Beyers N, Gie RP et al. The clinical and radiological features of tuberculosis in adolescents. *Ann of Trop Paediatr* 20:5-10, 2000.
11. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS et al. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis. A critical review of the literature from the pre-chemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis* 8:392-402, 2004.
12. Marais BJ, Gie RP, Hesselning AC, Beyers N. Adult-type pulmonary tuberculosis in children aged 10-14 years. *Pediatr Inf Dis J* 24:743-744, 2005.
13. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS et.al. Childhood pulmonary tuberculosis: Old wisdom and new challenges. *Am J Resp Crit Care Med* 173:1078-1090, 2006.
14. Curtis AB, Ridzon R, Vogel R et.al. Extensive transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from a child. *N Engl J Med* 341:1491-1495, 1999.
15. Ewer K, Deeks J, Alvarez L et. al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet* 361:1168-1173, 2003.