

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y
GINECOLOGÍA, PEDIATRÍA, RADIOLOGÍA Y
ANATOMÍA**

**Interrupción programada del
tratamiento antirretroviral en
pacientes pediátricos infectados por
el VIH**

Memoria de Tesis para optar al grado de Doctor
por la Universidad de Barcelona

Doctorando: Laia Alsina Manrique de Lara
Directores: Profesor Rafael Jiménez González,
Doctora Clàudia Fortuny Guasch
Doctor Antoni Noguera Julian



UNIVERSITAT DE BARCELONA

U

B

Facultad de Medicina
Departamento de Pediatría

Prof. R. Jiménez
Catedrático de Pediatría

Hospital Sant Joan de Déu
Passeig de Sant Joan de Déu, 2
08950 Esplugues de Llobregat
Tel. 93 253 21 30
Fax 93 280 41 79
E-mail: rjimenez@medicina.ub.es

Rafael JIMÉNEZ GONZÁLEZ, Catedrático de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Certifica:

Que **Laia Alsina Manrique de Lara** ha trabajado bajo mi co-dirección, la Tesis Doctoral sobre el tema: **“Interrupción programada del tratamiento antirretroviral en pacientes pediátricos infectados por el VIH”**, que está en condiciones de ser presentada para la obtención del Grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Barcelona.

Lo que certifico en Barcelona a 15 de Abril de 2008.

Rafael JIMÉNEZ GONZÁLEZ



UNIVERSITAT DE BARCELONA

U

B

Facultad de Medicina
Departamentd de Pediatria

Prof. R. Jiménez
Catedrático de Pediatria

Hospital Sant Joan de Déu
Passeig de Sant Joan de Déu, 2
08950 Esplugues de Llobregat
Tel. 93 253 21 30
Fax 93 280 41 79
E-mail: rjimenez@medicina.ub.es

Clàudia FORTUNY GUASCH, Profesora Asociada de Pediatria de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Certifica:

Que **Laia Alsina Manrique de Lara** ha trabajado bajo mi co-dirección, la Tesis Doctoral sobre el tema: **“Interrupción programada del tratamiento antirretroviral en pacientes pediátricos infectados por el VIH”**, que está en condiciones de ser presentada para la obtención del Grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Barcelona.

Lo que certifico en Barcelona a 15 de Abril de 2008.

Clàudia FORTUNY GUASCH



UNIVERSITAT DE BARCELONA



Facultad de Medicina
Departamento de Pediatría

Prof. R. Jiménez
Catedrático de Pediatría

Hospital Sant Joan de Déu
Passeig de Sant Joan de Déu, 2
08950 Esplugues de Llobregat
Tel. 93 253 21 30
Fax 93 280 41 79
E-mail: rjimenez@medicina.ub.es

Antoni Noguera Julian, Profesor Asociado de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Certifica:

Que **Laia Alsina Manrique de Lara** ha trabajado bajo mi co-dirección, la Tesis Doctoral sobre el tema: **“Interrupción programada del tratamiento antirretroviral en pacientes pediátricos infectados por el VIH”**, que está en condiciones de ser presentada para la obtención del Grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Barcelona.

Lo que certifico en Barcelona a 15 de Abril de 2008.

Antoni NOGUERA JULIAN

Agradecimientos

Gracias Xesc por haberme apoyado, enseñado, animado, y motivado, en el arduo camino que es escribir una Tesis Doctoral

Gracias Marc, que has crecido mientras yo construía esta Tesis Doctoral, por recordarme cada día que la vida es amor

A mis padres y a mis hermanas Lourdes, Titi y María, por su apoyo incondicional

A Clàudia, por su generosidad. Gracias por enseñarme

A Ton, por su inestimable e inagotable ayuda y tenacidad en la elaboración de esta Tesis Doctoral

Al Profesor Rafael Jiménez, que me ha apoyado siempre y ha tenido muchos consejos útiles para mí; a Ana Sáez, sin la que esta Tesis no hubiera llegado a puerto

A Mamen, y al resto de los compañeros del Laboratorio del Hospital Sant Joan de Déu, por enseñarme y ayudarme en uno de los aspectos más difíciles de la Tesis

A Lúdia y Rocío, del Laboratorio de Retrovirología del Hospital Germans Trias i Pujol, por introducirme en el difícil mundo de la Inmunología

A Emilia, por su inestimable ayuda en la estadística

A mis co-Residentes, por la amistad y los ánimos desde que entré hace ya casi 7 años en el Hospital Sant Joan de Déu

A Jordi Pou, Juanjo, María y Wael, gracias por confiar en mí y ayudarme en los momentos iniciales de mi vida laboral. Siempre quedará algo por aprender

A Marta, Eva, y los que vendrán, y en general a todos los compañeros del Servicio de Pediatría del Hospital Sant Joan de Déu. Me he sentido como en una gran familia

A la Dirección Médica del Hospital Sant Joan de Déu, por el soporte y la confianza que han brindado en mí

Gracias a la Universitat de Barcelona por la concesión de la beca Agustí i Pedro Pons, que me ha permitido realizar el proyecto de investigación que conforma esta Tesis Doctoral

Y por encima de todo, gracias a los niños y a las familias que conviven con el VIH, que son una muestra de tenacidad

A todos vosotros, muchas gracias de todo corazón.

Índice

Capítulo I: Introducción	Página 7
1. Epidemiología de la infección por el VIH.	9
2. Biología de la infección por el VIH.	14
3. Desarrollo de la respuesta inmune frente al VIH en el niño.	17
4. Inmunopatología de la infección por el VIH.	18
4.1 Depleción de los linfocitos CD4+.	
4.2 Destrucción de la respuesta inmune específica frente al VIH.	
4.3 Infección del tejido tímico.	
4.4 Influencia de los factores genéticos en la progresión de la infección por el VIH.	
4.5 Influencia de los anticuerpos autólogos maternos en la infección perinatal por el VIH.	
5. Progresión de la infección por el VIH en la edad pediátrica.	24
6. Diagnóstico y clasificación de la infección por el VIH.	27
6.1 Diagnóstico de la infección por el VIH.	
6.2 Manifestaciones clínicas. Historia natural de la infección VIH de transmisión vertical.	
6.3 Clasificación de la infección por el VIH en la edad pediátrica.	
7. Tratamiento de la infección por el VIH.	38
7.1 Terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA).	
7.2 Reconstitución inmunológica con TARGA.	
7.3 Toxicidad del tratamiento antirretroviral.	
7.4 Cumplimiento del tratamiento antirretroviral.	
8. Interrupción programada del tratamiento antirretroviral.	49
Capítulo II: Hipótesis de trabajo y objetivos	53
Hipótesis de trabajo	55
Objetivos	57
Capítulo III: Pacientes y métodos	59
Diseño del estudio	61
Variables del estudio	63
Descripción de las técnicas de laboratorio más relevantes	65
Método estadístico	67
Capítulo IV: Resultados	69
Grupo A. Pacientes tratados durante la infección aguda	71
Grupo B. Pacientes tratados durante la infección crónica	92

Capítulo V: Discusión	<i>Página</i> 105
<i>Grupo A. Pacientes tratados durante la infección aguda</i>	107
<i>Grupo B. Pacientes tratados durante la infección crónica</i>	121
Capítulo VI: Conclusiones	137
Referencias bibliográficas	141
Anexos	153
Apéndice 1. <i>Clasificación de la infección por el VIH en la edad pediátrica: Categorías Clínicas</i>	153
Apéndice 2. <i>Clasificación de la infección por el VIH en la edad pediátrica: Categorías Inmunológicas</i>	155
Comunicación de los resultados	157

Abreviaciones

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
Ac	Anticuerpos
ADN	Ácido Desoxiribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
ARV	Fármacos Antirretrovirales
CDC	Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta (EEUU)
CMSP	Células mononucleares en sangre periférica
CMV	Citomegalovirus
CV	Carga Viral ARN-HIV (\log_{10} copias/ml)
d4T	Estavudina
ddI	Didanosina
EFV	Efavirenz
f-APV	Fos-amprenavir
HLA	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
IPs	Fármacos Inhibidores de la Proteasa
IPT	Interrupción programada del tratamiento antirretroviral
ITIANs	Fármacos Análogos de Nucleósidos Inhibidores de la Transcriptasa Inversa
ITINNs	Fármacos No Análogos de Nucleósidos Inhibidores de la Transcriptasa Inversa
LPV/r	Lopinavir/ritonavir
NIL	Neumonía Intersticial Linfoide
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapina
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
RI	Reconstitución inmunológica
RTV	Ritonavir
SIDA	Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana Adquirida
SRA	Síndrome Retroviral Agudo
SI	Sistema Inmune
TAR	Terapia Antirretroviral
TARGA	Tratamiento Antirretroviral de Gran Actividad
TDF	Tenofovir
TREC	T cell receptor excision circles
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
ZDV	Zidovudina

Índice de tablas

Tabla I.1 Comparativa de la sensibilidad de los diferentes tests virológicos para el diagnóstico de la infección por el VIH en niños.	Página 29
Tabla I.2 Diagnóstico de la infección por el VIH en niños.	30
Tabla III.3 Criterios de inclusión para los pacientes en el grupo de infección aguda (grupo A).	61
Tabla III.4 Criterios de inclusión para los pacientes en el grupo de infección crónica (grupo B).	62
Tabla III.5 Criterios de exclusión, válidos para ambos grupos en estudio (A y B).	62
Tabla III.6 Criterios que determinan la necesidad de reiniciar TARGA, válidos para ambos grupos en estudio (A y B).	62
Tabla IV.7 Antecedentes perinatólogicos del grupo A.	73
Tabla IV.8 Características clínicas, inmunológicas y virológicas de los pacientes al diagnóstico de la infección VIH.	75
Tabla IV.9 Evolución clínica e inmunoviológica durante TARGA.	79
Tabla IV.10 Evolución durante la interrupción programada del tratamiento antirretroviral.	81
Tabla IV.11 Genotipado del VIH, pre y post interrupción, de los pacientes del grupo A.	84
Tabla IV.12 Respuesta inmune específica a distintos antígenos durante el TARGA en los pacientes del grupo A.	88
Tabla IV.13 Respuesta inmune específica a distintos antígenos tras la IPT en los pacientes del grupo A	89
Tabla IV.14 Características clínicas, inmunológicas y virológicas al diagnóstico de la infección VIH y al inicio de TARGA de los grupos B y C.	91
Tabla IV.15 Características clínicas e inmunológicas principales de los pacientes que interrumpieron TARGA (grupo B).	95
Tabla IV.16 Genotipado del VIH, basales y tras la IPT, de los pacientes en el grupo B.	98
Tabla IV.17 Respuesta inmune específica a distintos antígenos tras la IPT en los pacientes del grupo B.	102
Tabla IV.18 Respuesta inmune específica a distintos antígenos en los pacientes del grupo de comparación	102
Tabla V.19 Estudios sobre IPT guiada por la cifra de linfocitos CD4+ en población pediátrica con infección crónica por VIH.	127

Índice de figuras

Figura I.1 Incidencia anual de SIDA en España. Registro Nacional de SIDA. Centro Nacional de Epidemiología. Actualización a 30 de Junio de 2007.	Página 10
Figura I.2 Evolución de la eficacia de las medidas de prevención de la infección vertical por VIH-1 entre 1994 y 2004.	13
Figura I.3 Casos de SIDA en España de transmisión vertical. Registro Nacional de SIDA. Centro Nacional de Epidemiología. Actualización a 30 de Junio de 2007.	13
Figura I.4 Composición del virus de la inmunodeficiencia humana	14
Figura I.5 Co-receptores del VIH-1 (CCR5 y CXCR4) necesarios para la unión del virus al linfocito CD4+.	15
Figura I.6 Evolución natural de las cifras de linfocitos CD4+ y de la carga viral durante la infección por VIH en el adulto.	20
Figura I.7 Riesgo de muerte en los 12 meses por edades, en función de las cifras umbral de CD4%, CD4 total y linfocitos totales.	25
Figura I.8 Carga viral del VIH (\log_{10} ARN-VIH) en relación a la edad en niños infectados por el VIH-1 no tratados .	26
Figura I.9 Reducción de la progresión a SIDA y la mortalidad con las nuevas terapias antirretrovirales en niños.	40
Figura I.10 Evolución de los niveles de TREC en células mononucleadas y linfocitos CD4+ en sangre periférica tras el inicio de TARGA en niños.	44
Figura I.11 Repoblación CD4+. Análisis de las subpoblaciones de células naive y memoria tras inicio de TARGA en niños.	44
Figura I.12 Respuesta a TARGA. Tiempo tras TARGA para alcanzar cifras de CD4% del 30% en relación a la edad y los CD4+ basales.	45
Figura I.13 Relación entre cumplimiento terapéutico y éxito virológico (ARN-VIH<400 copias/ml) en adultos.	48
Figura I.14 Relación entre cumplimiento terapéutico y éxito virológico (VIH RNA<400 copias/ml) en niños.	48
Figura IV.15 Evolución inmunoviológica durante TARGA.	78
Figura IV.16 Evolución virológica tras la IPT de los pacientes con CV detectable al inicio de la IPT (en punteado, n=2) y de los pacientes con CV indetectable al inicio de la IPT (en continuo, n=4).	83

Figura IV.17 Evolución del recuento porcentual de linfocitos CD4+ tras la IPT (valores medianos y rango).	Página 86
Figura IV.18 Evolución del recuento porcentual de linfocitos CD4+ tras la IPT de los pacientes con CV detectable al inicio de la IPT (en punteado, n=2) y de los pacientes con CV indetectable al inicio de la IPT (en continuo, n=4).	86
Figura IV.19 Evolución del porcentaje de linfocitos CD4+, y de las subpoblaciones de linfocitos CD4+: memoria (CD45RO+) y naïve (CD45RA+), valores medianos.	87
Figura IV.20 Evolución virológica tras la IPT (Grupo B).	97
Figura IV.21 Evolución de los porcentajes de linfocitos CD4+ en el Grupo B tras la IPT (mediana, rango), y en el Grupo C (sólo valores medianos) de los últimos 4 años de seguimiento.	99
Figura IV.22 Evolución del porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos CD4+ (memoria y naïve) tras la IPT (valores medianos)	100

Capítulo I

Introducción

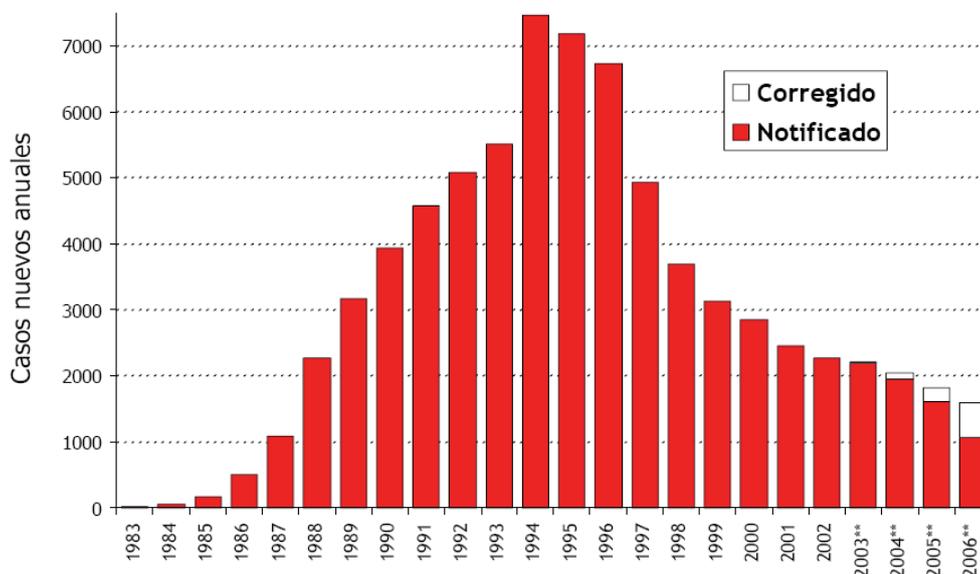
1. Epidemiología de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana.

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) representa una de las mayores pandemias de los últimos años, con 33,2 millones (30,6-36,1 millones) de personas infectadas en todo el mundo, según los últimos datos de ONUSIDA (*WHO/UNAIDS 2007*). A pesar de los continuos avances en el acceso a los tratamientos antirretrovirales y a cuidados médicos en muchas regiones del mundo, sólo en el 2007, 2,1 millones (1,9-2,4 millones) de personas fallecieron a causa de la infección, 330.000 de los cuales son niños. Asimismo, aunque se establecieron las vías de transmisión ya al inicio de la epidemia, estamos lejos de tenerla controlada estimándose que durante el año 2007, se produjeron 2,5 (1,4-3,6 millones) millones de nuevas infecciones.

España ha sido hasta la fecha uno de los países occidentales con mayor incidencia de síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Desde el inicio de los años 80 y hasta el 30 de Junio de 2007, han sido declarados en España 74.885 casos de SIDA, de los cuales 1.004 en menores de 13 años, la mayoría (n=924) de ellos niños infectados por transmisión vertical. En los últimos años, hemos asistido en España, tras la introducción de los nuevos tratamientos antirretrovirales, a un marcado descenso de esta incidencia: durante los años 2006 y 2007, fueron declarados 1.410 y 359 nuevos casos de SIDA respectivamente, y sólo 7 fueron pacientes pediátricos, infectados por transmisión vertical (6 en el año 2006 y 1 en el año 2007).

Actualmente la tasa de incidencia de nuevos casos de infección por el VIH en España se estima entre 50 y 80 casos por millón de habitantes y año, y el número de casos nuevos se situaría entre 2000 y 3500, lo que supone un ligero descenso respecto a años previos. El mecanismo de transmisión más frecuente es la transmisión heterosexual (46,1%) (*Centro Nacional de Epidemiología, Vigilancia Epidemiológica del VIH en España. Junio 2007*) (**Fig.I.1**).

Figura I.1. Incidencia anual de SIDA en España. Registro Nacional de SIDA. Centro Nacional de Epidemiología. Actualización a 30 de Junio de 2007.



En la actualidad, el principal mecanismo de infección VIH a nivel mundial es la transmisión sexual y en concreto las relaciones heterosexuales, que han desplazado las relaciones homosexuales y la transmisión parenteral por uso de drogas, que constituyeron las principales vías de infección al inicio de la pandemia. El aumento de la proporción de mujeres infectadas, un millón de casos entre los años 2003 y 2005, supone, en ausencia de medidas específicas de profilaxis de la transmisión vertical, un potencial incremento en los próximos años de la incidencia de nuevos casos de infección VIH en niños.

En la edad pediátrica los niños y adolescentes adquieren la infección VIH por tres vías: 1) transmisión vertical, más del 95% de los menores de 13 años infectados son hijos de madres asimismo infectadas, 2) transmisión parenteral por uso de drogas por utilización de material contaminado o a través de hemoderivados contaminados por el VIH antes del control de las donaciones o que proceden de otros lugares donde no existe cribado de las mismas; y 3) transmisión sexual en adolescentes (contactos sexuales sin protección).

La transmisión vertical o materno-infantil del VIH puede acontecer en tres momentos distintos:

1. Transmisión prenatal, intraútero o transplacentaria. La infección durante la gestación tiene lugar por el paso del VIH materno a través de la placenta. Aproximadamente el 35 % de los niños que se infectan por transmisión vertical lo hacen antes del parto (infección prenatal o intrauterina). El riesgo de transmitir la infección durante la gestación es significativamente más elevado en las mujeres inmunodeprimidas o con enfermedad avanzada, y en las madres que no han recibido ARV durante la gestación, presentando su descendencia formas más graves de enfermedad. Aún cuando el VIH ha sido aislado en fetos de diferentes edades gestacionales, el 98% de las infecciones prenatales ocurren en las últimas semanas del embarazo (59 días). Cuando la infección ocurre durante las primeras semanas de gestación ésta se interrumpe; de hecho las mujeres infectadas por el VIH tienen un índice más elevado de pérdidas fetales espontáneas.

2. Transmisión intraparto o perinatal. El recién nacido puede infectarse durante el parto, sea por exposición directa de sus mucosas al VIH o por vía ascendente, la infección se vería favorecida por las contracciones uterinas. El 65% de las infecciones ocurren durante el parto, aumentando esta proporción cuando se trata de partos prematuros.

3. Transmisión posnatal o posparto. El VIH puede transmitirse a través de la lactancia materna. Se ha calculado que el riesgo añadido de adquirir la infección por VIH en los niños amamantados al pecho es del 14 %, con infección materna crónica (infección previa o durante el embarazo) y del 26 % en los casos en que la infección de la madre ocurre perinatalmente durante o inmediatamente después del parto y coincide con niveles elevados de viremia. El riesgo de infección por esta vía aumenta con el tiempo de amamantamiento (3,2 % por año de amamantamiento después de los primeros 2 meses), con la lactancia mixta, en presencia de mastitis y avitaminosis. El VIH penetrará a través de la piel o las mucosas del recién nacido con solución de continuidad o bien a través de su mucosa gastrointestinal. La lactancia materna está contraindicada en los países desarrollados.

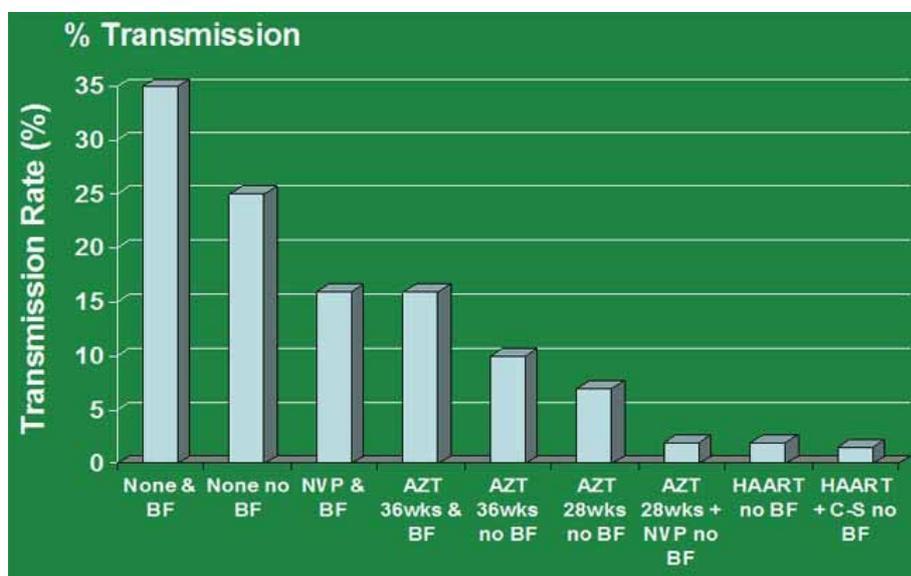
El riesgo de transmisión vertical en ausencia de medidas de profilaxis, es del 14-25% cuando se contraindica la lactancia materna y del 30 al 40% en niños

amamantados (*Nduati 2000*). En los países donde la lactancia materna no está contraindicada, se estima que el 10% de los niños se infecta durante el embarazo, el 15% durante el parto, y entre el 10-15% en el periodo postnatal a través de la lactancia materna, dependiendo de la duración de la misma. Se han descrito varios factores asociados a la transmisión vertical, entre los que destacan los maternos. Las madres con carga viral elevada, sin tratamiento antirretroviral, sintomáticas, inmunodeprimidas, con consumo de opiáceos durante la gestación, con relaciones sexuales no protegidas e infecciones en el canal genital tienen un mayor riesgo de infectar a sus hijos. La prematuridad, la ruptura prematura de membranas amnióticas, el sangrado vaginal y los expulsivos prolongados se han correlacionado también con un mayor riesgo de infección para los recién nacidos.

Entre las medidas introducidas para reducir la tasa de transmisión vertical cabe destacar: la introducción de la zidovudina (ZDV) en 1994, tras la publicación de los resultados del ensayo clínico ACTG 076, en el que la administración de un único antirretroviral, la ZDV durante el embarazo, el parto y primeras seis semanas al recién nacido, redujo del 67,5% (del 24% al 8%) el riesgo de infección del recién nacido (*Connor, 1994*). Más tarde, en el año 1999, la cesárea programada demostró ser protectora disminuyendo, en relación a otro tipo de parto, a la mitad el riesgo de infección del recién nacido (*International Perinatal HIV Group, 1999, The European Mode of Delivery Collaboration 1999*). Posteriormente la combinación de ZDV + parto por cesárea programada + lactancia artificial redujo la tasa de transmisión vertical del VIH al 2% (**Fig. I.2**).

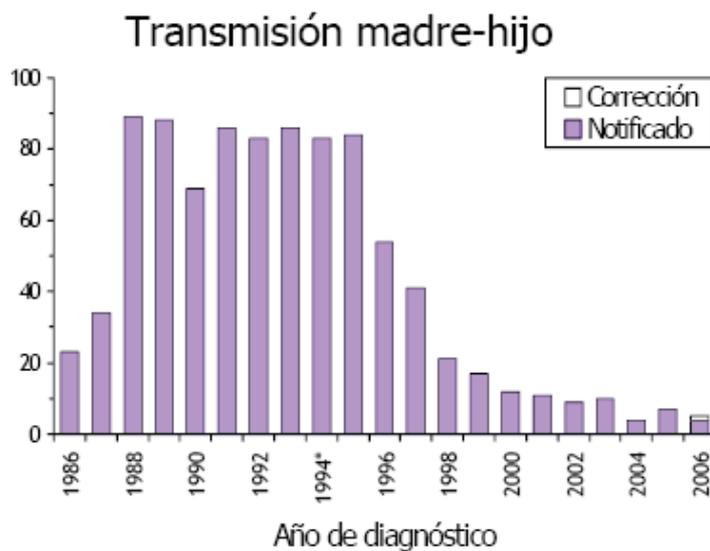
En los últimos años, los esfuerzos en reducir la transmisión vertical se han centrado en potenciar el tratamiento antirretroviral en la madre para reducir al máximo la carga viral en el momento del parto. La administración de una dosis única de nevirapina a la madre al inicio del parto y en el recién nacido a las 48h de vida, junto con la profilaxis con ZDV, redujo la tasa de transmisión vertical en partos vaginales del 10% al 2% (*Lallemant 2004*), siendo los resultados de gran interés para los países en vías de desarrollo donde la cesárea puede no ser una opción terapéutica. Finalmente, el uso de TARGA durante el embarazo, junto con la cesárea electiva, la lactancia artificial y la profilaxis con ZDV durante el parto y en el recién nacido, han reducido la tasa de transmisión vertical al 1-1,5% (*Dorenbaum 2002*). Con ello, parece que se ha alcanzado el nivel más bajo de transmisión vertical del VIH en los países industrializados (**Fig. I.3**).

Figura I.2. Evolución de la eficacia de las medidas de prevención de la infección vertical por VIH-1 entre 1994 y 2004.



BF, lactancia materna; NVP, nevirapina; AZT, zidovudina; HAART, terapia antirretroviral de gran eficacia; C-S, cesárea.

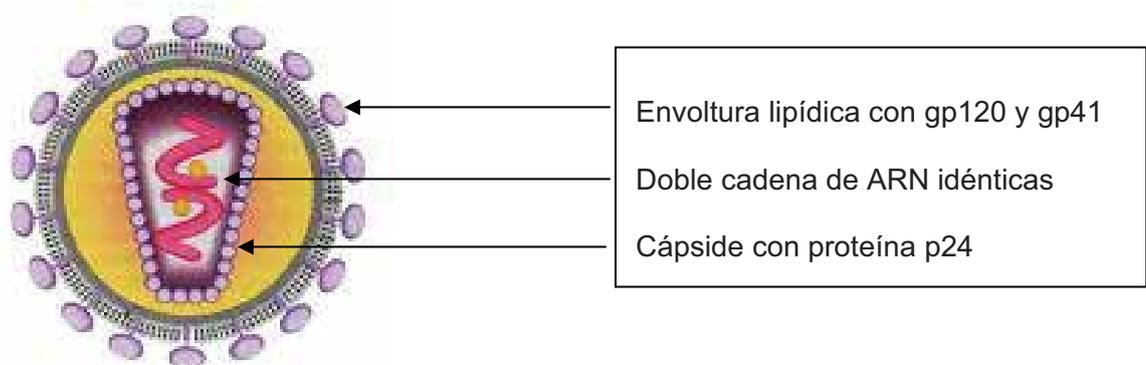
Figura I.3. Casos de SIDA en España de transmisión vertical. Registro Nacional de SIDA. Centro Nacional de Epidemiología. Actualización a 30 de Junio de 2007.



2. Biología de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana

Varios autores sugieren que fue en la década de 1930 el momento en que el virus de la inmunodeficiencia del chimpancé fue transferido a la especie humana en África Central, convirtiéndose así en el VIH-1 (VIH), un virus extremadamente adaptado a la especie humana y con una amplia diversidad genética (Korber 2000). Se trata de un virus ARN con una envoltura lipídica y dos cadenas de ARN idénticas. El genoma del virus consta de 9200 pares de bases. La presencia de la doble cadena facilita la recombinación entre diferentes virus. La capa que envuelve el genoma, o cápside, incluye una proteína, p24, que ha sido utilizada como diana de tests diagnósticos. La capa más externa, la envoltura lipídica, incluye dos glicoproteínas, gp120 y gp41, que juntas son las responsables de la unión y la entrada del virus en la célula huésped.

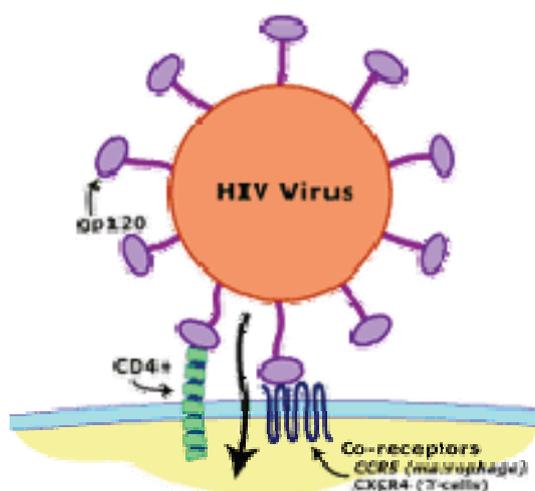
Figura. I.4 Composición del virus de la inmunodeficiencia humana.



La diana del VIH son aquellas células que presentan en su superficie el receptor CD4. Existen dos tipos de células CD4+: los linfocitos T colaboradores, moduladores de la respuesta inmune adaptativa, y las células de la línea macrófaga, que actúan como células presentadoras de antígeno: monocito, macrófago, microglía, célula dendrítica, célula de Langerhans y célula de Kupffer. La unión de la gp120 a la molécula CD4 necesita de uno de los dos co-receptores siguientes, denominados CCR5 y CXCR4 (Deng 1996) (**Fig.I.5**). Se trata de receptores de superficie celular que

se unen a quemoquinas, una familia de citoquinas responsable de mediar la quimiotaxis. Globalmente, los receptores CCR5 predominan en las células de la línea macrófaga y los receptores CXCR4 en los linfocitos T colaboradores. Un pequeño grupo de aminoácidos de la gp120 del VIH determina el tropismo por un co-receptor concreto (Greene 2002). En el organismo existen virus con ambos tropismos. La especie predominante en la fase inicial de la infección es la que presenta un tropismo por el receptor CCR5, siendo responsable de la transmisibilidad del virus, mientras que durante la progresión de la enfermedad la población predominante es aquella con tropismo por el co-receptor CXCR4 (Scarlati 1997, Liao 2001).

Figura.I.5. Co-receptores del VIH (CCR5 y CXCR4) necesarios para la unión del virus al linfocito CD4+.



Una vez el virus ha entrado en la célula huésped, la transcriptasa inversa se encargará de crear una cadena de ADN a partir de las dos cadenas de ARN. Se entiende así que, en caso de haber cadenas de ARN de virus diferentes, se pueda crear una única cadena de ADN resultante de la combinación del ARN de dos virus diferentes.

Otra fuente de la gran variabilidad del virus resulta del hecho que la transcriptasa inversa no es muy eficiente. Los errores de la producción de la cadena complementaria no se corrigen, a diferencia de las ADN polimerasas. Se estima, de media, que cada genoma hijo acarrea un error desde el genoma padre, con una media de una base errónea por cada 4.000 pares de bases, lo que supone un cambio de aminoácido en cualquier posición por día. A partir de la monocadena de ADN complementario, la polimerasa viral creará una doble cadena de ADN que se integrará en el genoma de la célula huésped.

La capacidad del VIH de integrarse en la célula es la clave para entender la dificultad de erradicar el virus del huésped infectado. En efecto, los diferentes tipos de células infectadas tienen vidas medias muy variables. Si bien la mayoría de células infectadas morirán en las 24-48 horas que siguen a la infección, principalmente los linfocitos, se constituye un reservorio de células en estado latente con ADN proviral integrado, formado por linfocitos CD4+ memoria, cuya vida media se estima de un mínimo de 6 meses, y por células de la línea macrofágica donde el genoma puede persistir durante años y que continúan produciendo virus sin ser destruidas. Así, se estima que aún con los tratamientos antirretrovirales más eficaces, serían necesarios más de 60 años para que la última de las células infectadas muriera (*Finzi 1998, Blankson 2002, Stebbing 2004*).

La transcripción del ADN viral al ARN mensajero y genómico la lleva a cabo la ARN polimerasa de la célula huésped. Ésta es una nueva fuente de variabilidad en el genoma viral resultante dado que dicho enzima también acumula errores en la transcripción. Finalmente, la proteasa viral será la encargada de cortar la gran poliproteína codificada por el ARN mensajero, que incluye las componentes de la cápside, la matriz y la misma transcriptasa inversa del VIH. Tenemos así un nuevo virus que surge de la célula infectada para buscar su nueva diana. La replicación del VIH resulta altamente eficaz, creándose de media unos 10.000.000.000 de nuevos viriones por día, y los linfocitos CD4+ se convierten en grandes fábricas de virus nuevos a nivel del tejido linfoide periférico. Se estima que los linfocitos CD4+ infectados producen suficientes partículas virales para infectar aproximadamente el mismo número de nuevas células.

3. Desarrollo de la respuesta inmune frente al VIH en el niño.

El recién nacido expuesto al VIH tiene una inmadurez tanto de la inmunidad innata como de la adaptativa, condicionada por su edad. Una manifestación de dicha inmadurez es el elevado recuento de linfocitos CD4⁺, muy superior al del adulto, que irá disminuyendo desde el nacimiento hasta los 6 años cuando alcanza cifras parecidas a éste (*Wade 1992, Shearer 2003*). Además, durante el periodo neonatal el 80-90% de los linfocitos CD4⁺ expresan el antígeno CD45RA (células *naïve*) y tan solo el 10-20% restante está constituido por linfocitos CD4⁺ que expresan el antígeno CD45RO y que son células memoria. Con la edad, se produce una reducción paulatina de los linfocitos CD4⁺ no diferenciados (*naïve*) a favor de linfocitos CD4⁺ memoria, que en la vida adulta representan el 50-60% del total de linfocitos CD4⁺. Las células T neonatales, en su mayoría vírgenes o *naïve*, proliferan más lentamente y tienen una respuesta menos eficiente a los estímulos antigénicos en comparación con las células con fenotipo memoria. Además, en los linfocitos neonatales se observa una menor producción de citoquinas (TNF-alfa, IFN-gamma, IL-3, IL-4, IL-5, IL-12), que son esenciales para una respuesta inmune rápida e integrada. Por todo ello, existe una menor capacidad de respuesta antivírica en el recién nacido que se perpetúa durante los primeros meses de vida. Ello determina, al menos en parte, las elevadas cargas virales (ARN-VIH) durante el primer año de vida de los niños infectados.

Tanto los linfocitos CD4⁺ como los CD8⁺ juegan un papel determinante en el control de la infección por VIH (*Alter 2007, Kauffman 2004 (a)*). La presencia de una respuesta inmune específica potente de los linfocitos CD4⁺ frente al VIH, se ha asociado a un control eficaz de la primoinfección por este virus (*Gloster 2004*) y a un menor riesgo de progresión de la enfermedad durante la fase crónica de la infección. Por el contrario, los pacientes con una replicación del VIH no controlada, y progresión rápida de la enfermedad, presentan con frecuencia una ausencia de respuesta proliferativa específica frente al VIH en los linfocitos CD4⁺. Las respuestas específicas de los linfocitos CD4⁺ frente al VIH en niños con infección VIH por transmisión vertical han sido poco estudiadas, pero, al igual que en los adultos, se ha detectado una respuesta proliferativa intensa frente a los antígenos Gag-p24 en los niños que controlan la viremia espontáneamente, mientras que en niños con progresión a SIDA, la respuesta proliferativa específica de los CD4⁺ frente a los antígenos Gag p55 disminuye durante el seguimiento (*Scott 2003*).

4. Inmunopatología de la infección por el VIH

En ausencia de tratamiento antirretroviral, el VIH produce una infección crónica y progresiva del SI humano que, invariablemente, con los años, conduce a su destrucción y a una inmunodeficiencia grave, en la que es característica la depleción de los linfocitos CD4+ (*Douek 2003 (b)*). La progresión de la infección depende de la interacción entre factores virales y factores del huésped. En un extremo del espectro se encuentran las personas que son capaces de organizar una respuesta inmune capaz de controlar la replicación viral, pudiendo permanecer clínicamente asintomáticos con una mínima pérdida de linfocitos CD4+ y cargas virales muy bajas, incluso indetectables. Son los “*Non-progressors o Long-term non-progressors*”. Al otro extremo del espectro encontramos a los individuos que son incapaces de controlar eficazmente la replicación viral y muestran una rápida depleción de los linfocitos CD4+, con manifestaciones clínicas de enfermedad grave o eventos diagnósticos de SIDA a los 2-3 años de adquirida la infección por el VIH.

- Depleción de los linfocitos CD4+

Ante todo, el VIH infecta los linfocitos T CD4+ o linfocitos colaboradores, principales moduladores de la respuesta inmune (*Stebbing 2004*), que son destruidos a un ritmo muy elevado, estimado del 5% del total de células CD4+ por día. La vida media de los linfocitos T infectados por el VIH *in vivo* se estima de 12-36 horas (*Ho 1995*). Diversos mecanismos han sido implicados en la destrucción de las células CD4+ por el VIH, siendo la apoptosis uno de los principales (*Paranjape 2005*).

El VIH puede inducir la apoptosis (mecanismo de muerte celular empleado normalmente por el organismo para eliminar células defectuosas o redundantes), no sólo en las células infectadas, sino además en células no infectadas, mediante la activación del mecanismo Fas-mediado (*Gougeon 2006*). Otro mecanismo detectado de muerte celular es la formación de células gigantes multinucleadas o sincitios. El VIH es capaz de inducir la fusión de la membrana de superficie de los linfocitos CD4+ adyacentes. Dichos sincitios tienen una vida media corta, y típicamente pueden observarse en las fases más avanzadas de la enfermedad cuando predomina el VIH con tropismo CXCR4. Tanto las células infectadas como las no infectadas participan en la formación del sincitio, acelerando así la destrucción linfocitaria (*Alimonti 2003*).

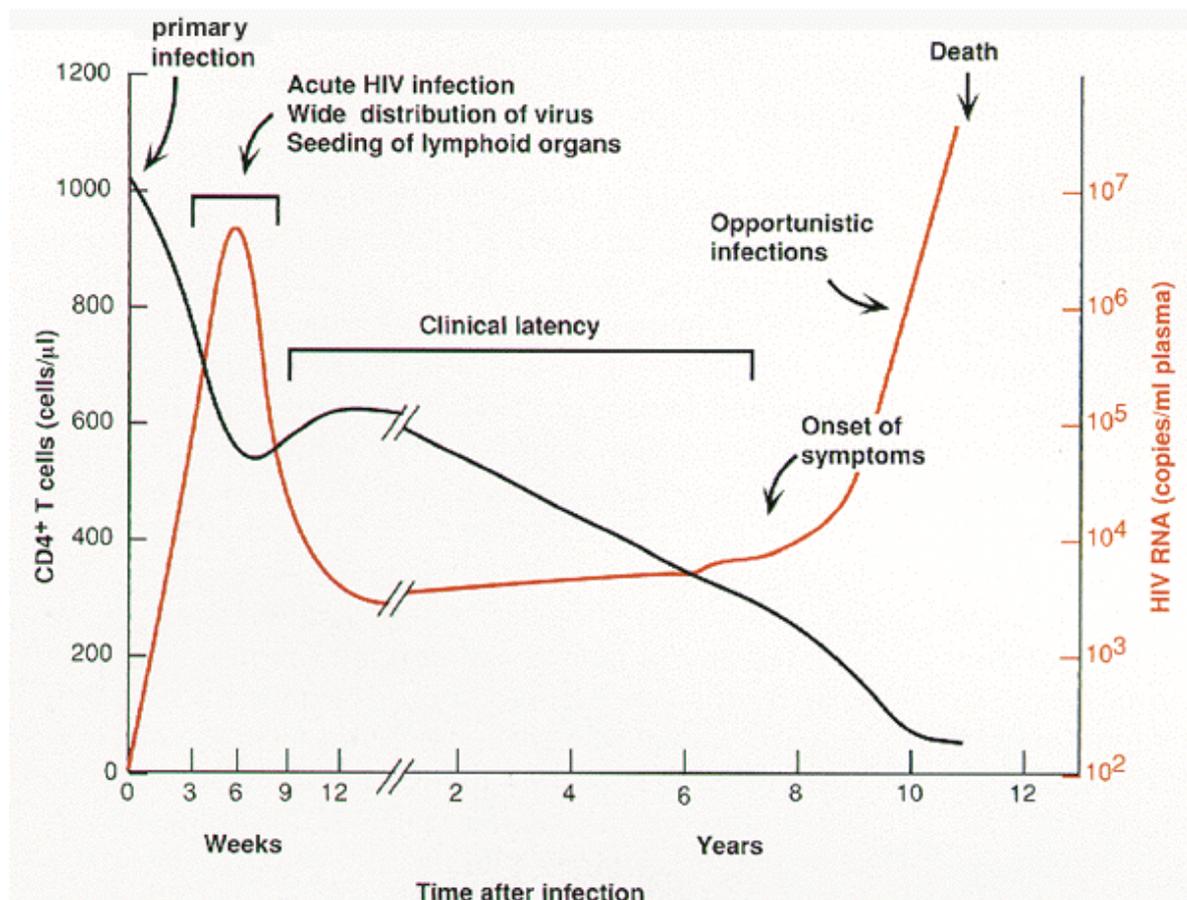
Otros mecanismos implicados en la depleción de los linfocitos CD4⁺ son la exostosis repetida de los nuevos viriones a través de la membrana de superficie, que aumenta la permeabilidad de la misma, destruyendo a la célula, y la respuesta T citotóxica. Durante la infección por el VIH, se genera una respuesta linfocitaria T específica frente al VIH con capacidad citolítica, y es el contacto del receptor del linfocito T citotóxico con el HLA modificado del linfocito infectado el que activa los mecanismos de lisis de la célula diana. Este mecanismo de citotoxicidad no parece jugar un papel principal en la caída de los linfocitos CD4⁺ dado que el porcentaje de células infectadas que se hallan en sangre periférica (donde se encuentran los linfocitos citotóxicos) representa sólo un pequeño porcentaje de los linfocitos infectados totales.

La caída de los linfocitos CD4⁺ durante la infección por el VIH es bifásica (**Fig. 1.6**). La primera etapa incluye la fase aguda de la infección, en la que se produce una profunda y rápida depleción de los linfocitos T memoria CD4⁺CCR5⁺ que se encuentran en el tejido linfoide asociado a mucosas (*Guadalupe 2003*). Ello provoca un daño masivo y potencialmente irreversible de la respuesta inmune mediada por los linfocitos CD4⁺. La constitución de una respuesta tanto humoral como celular potentes, aunque en última instancia, ineficaces, frente al VIH lleva a la segunda etapa o fase crónica de la infección, caracterizada por un control parcial de la replicación viral, una activación crónica del SI y una depleción progresiva de los linfocitos T, tanto *naïve* como de memoria (*Douek 2003, Derdeyn 2005*).

El efecto citopático del VIH sobre las células CD4⁺ descrito, puede ser el responsable de la rápida disminución de los linfocitos CD4⁺ en la fase aguda de la infección por el VIH, pero por sí sólo no justifica la depleción celular que se observa en la fase crónica de la infección (*Douek 2003 (b)*). Avances recientes ahora indican que la patogenia del VIH probablemente resulta de una interrelación compleja entre el virus y el SI, concretamente en la homeostasis de los linfocitos T y su regeneración. De hecho, la replicación más eficaz del VIH se produce en los linfocitos CD4⁺ activados (*Douek 2002*). Cuando un linfocito está activado en respuesta a una infección, prolifera intensamente y su vida media se ve reducida. Así, induciendo la activación de los linfocitos T, el VIH genera su propio sustrato, perpetuando la replicación viral. Pero en contrapartida, la activación sostenida genera un estado constante de proliferación y muerte celular, tanto de los linfocitos CD4⁺ como los

CD8+, aunque en mayor medida los CD4+. Se cree que este es el mecanismo que justifica la depleción progresiva de los CD4+ en la fase crónica de la infección por VIH-1 (Grossman 2002). La alteración de la activación de la respuesta inmune se caracteriza por el aumento de expresión de HLA-DR, CD38 y CD95 (Fas) en los linfocitos CD4+ y CD8+, y se ha correlacionado con la progresión a SIDA y disminución de la supervivencia de los pacientes infectados (Giorgi 1999).

Figura I.6. Evolución natural de las cifras de linfocitos CD4+ y de la carga viral durante la infección por VIH en el adulto.



En la historia natural de la enfermedad en el niño, el mayor descenso de linfocitos CD4+ ocurre en el primer año de vida, aproximadamente 250 cél./ μ l, disminuyendo posteriormente de manera gradual hasta los 6-8 años. En este grupo de edad se experimenta un descenso aproximado de unas 73 cél./ μ l al año. A partir de los 6 años de edad, la disminución de linfocitos CD4+ es similar a la de adultos asintomáticos (descenso de 60 cél./año) (Mofenson 1997).

La pérdida de las células CD4+ y la disfunción de las supervivientes finalmente conduce a una respuesta inmune, tanto humoral como celular, deficitaria frente a infecciones y tumores (linfomas B no Hodgkin, sarcoma de Kaposi, carcinoma cervical invasivo). La alteración de la respuesta inmunitaria humoral se manifiesta por infecciones piógenas recurrentes, y la de la respuesta inmunitaria celular, por infecciones diseminadas por gérmenes oportunistas: parásitos (*Pneumocystis jirovecii*, criptosporidios, isosporas, toxoplasma), micobacterias atípicas, hongos (criptococo, cándida, histoplasma, coccidiomicosis) y virus (virus herpes simple, citomegalovirus) conformando así el cuadro clásico de la enfermedad por VIH o SIDA.

- Destrucción de la respuesta inmune específica frente al VIH

Entre los linfocitos CD4+, la subpoblación más afectada por la infección VIH es la de las células memoria, que expresan CD45RO y constituyen además el principal reservorio del virus. Las células *naïve* también se infectan, pero en menor frecuencia (Brenchley 2004). La relevancia de este hecho es que la memoria inmunológica incluye la respuesta inmune específica frente al VIH, y al ser destruida, podría comprenderse la enorme dificultad en controlar la replicación viral (Douek 2002). Concretamente, se ha observado que la viremia por VIH interfiere en la respuesta Gag-específica de los CD4+ induciendo un cambio desde un fenotipo productor de IL-2 a un fenotipo con menor capacidad proliferativa, lo que limita la eficacia de la respuesta inmune específica frente al VIH (Palmer 2004).

Por otro lado, el inicio precoz del tratamiento antirretroviral en la fase aguda de la infección por VIH podría preservar los linfocitos CD4+ específicos frente al VIH (Rosenberg 2000) y por ello en la actualidad se están evaluando los beneficios a medio y largo plazo del tratamiento de la infección aguda por VIH en los adultos.

- Infección del tejido tímico

El VIH asimismo infecta el tejido tímico, causando una involución del timo y una depleción de los timocitos, tanto en niños como en adultos (Ye 2004). El timo es un órgano linfoide fundamental en el SI del niño porque en él se desarrollan y maduran las células T (timopoyesis) y se genera la extraordinaria diversidad de especificidades antigénicas (repertorio inmunológico), que permitirá el reconocimiento, regulación y neutralización de elementos extraños al organismo y tolerar lo propio. La destrucción del timo, así como de las células estromales auxiliares de la médula ósea, los dos principales centros de la linfopoiesis, tiene como consecuencia una menor reposición de los linfocitos T destruidos. Los TREC han sido desarrollados como un marcador de las células recientemente emigradas del timo, y es una forma de evaluar y cuantificar el funcionamiento del timo. La infección por el VIH provoca un descenso en las concentraciones de TREC tanto en niños como en adultos (Douek 2004). Modelos matemáticos sugieren que la infección tímica en la edad pediátrica es más severa que en adultos, particularmente en la infecciones por cepas de VIH que emplean el CXCR4 como co-receptor.

- Influencia de los factores genéticos en la progresión de la infección por el VIH

Se han estudiado principalmente dos factores genéticos que influyen en la progresión de la infección por el VIH (Paranjape 2005), que incluyen: alelos del HLA y mutaciones o polimorfismos de los co-receptores del VIH. En cuanto al complejo mayor de histocompatibilidad, existe una asociación entre los HLA B57, B14, C8 y B27 con una menor progresión a SIDA (Hendel 1999) y, viceversa, una mayor progresión en caso de presentar los alelos HLA B3501 y Cw4. En cuanto a los co-receptores del VIH, una de las asociaciones entre polimorfismo genético y progresión de la infección más fuerte hallada es la que afecta al receptor CCR5. Una mutación homocigota a nivel del par de bases en posición 32 reduce la susceptibilidad a la infección por el VIH, y una mutación heterocigota reduce la progresión una vez se ha producido la infección (Huang 1996).

- Influencia de los anticuerpos maternos autólogos en la infección perinatal por el VIH

Los anticuerpos maternos IgG frente al VIH atraviesan la placenta, por un mecanismo mediado por receptor (*Landor 1998*) empezando a las 18 semanas de gestación, con un pico durante el parto, y luego persisten en el lactante hasta los 18 meses de vida. Por ello se ha planteado la posibilidad que dichos anticuerpos puedan prevenir, o incluso modificar, la infección por VIH en el niño. Los resultados de diferentes estudios son controvertidos (*Hengel 1998*), pero la hipótesis actual (*Dickover 2006*) es que los anticuerpos autólogos maternos ejercen un papel protector dual, por una parte reduciendo el riesgo de transmisión vertical del VIH perinatalmente, tanto en el útero como periparto, y por otra modificando la viremia primaria o inicial y la progresión de la enfermedad en el niño. En los niños infectados por el VIH, se observa una población de virus genéticamente homogénea a diferencia de la heterogenicidad de las poblaciones virales que se detectan en su madre infectada. (*Jansson 1997*). Además, las variantes del VIH transmitidas al niño son inicialmente sensibles a los anticuerpos autólogos, aunque rápidamente adquieren mutaciones de escape frente a los anticuerpos maternos al estar sometidos a la presión inmunológica de los mismos.

5. Progresión de la infección por el VIH en la edad pediátrica

La infección VIH en la edad pediátrica tiene unas características diferenciales respecto al adulto, puesto que incide en una etapa de pleno desarrollo y diferenciación celular:

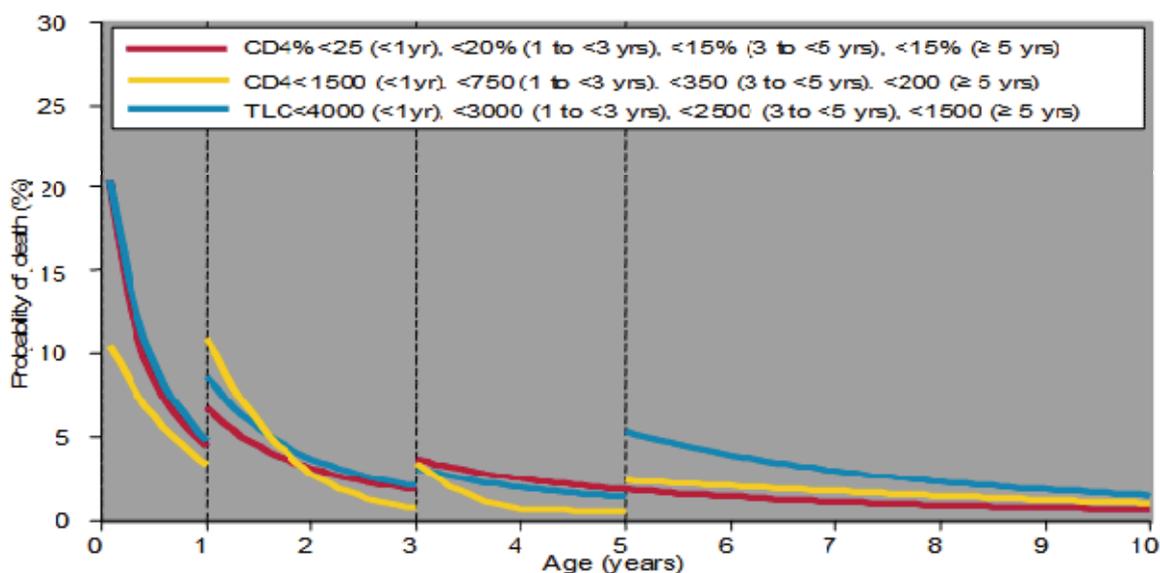
1) La infección VIH por transmisión vertical constituye un caso especial de infección aguda, considerada como tal si el diagnóstico se produce antes de las 12 semanas de vida.

2) El sistema inmune del recién nacido y lactante es inmaduro y por tanto más susceptible a los efectos de un virus dirigido contra él: la disfunción de los linfocitos B es precoz y responsable de la mayor susceptibilidad de los niños infectados a padecer infecciones bacterianas. La disminución de los linfocitos CD4+ en los neonatos y lactantes infectados es mucho más rápida que la observada en el adulto. El diagnóstico de infecciones oportunistas durante los primeros meses de vida, como la neumonía por *Pneumocystis jirovecii*, evidencia una inmunodepresión celular grave en ocasiones con recuentos de linfocitos CD4+ elevados, ya que las alteraciones funcionales del sistema inmune son mucho más importantes y precoces en los niños infectados (*European Collaborative Study 2001*).

3) El riesgo de desarrollar SIDA es más elevado en niños que en adultos: sin tratamiento, aproximadamente la mitad de los niños desarrollan sintomatología grave, diagnóstica de SIDA, antes de los 5 años, sobreviviendo el 75% a esta edad (*Blanche 1997, HIV Paediatric Prognostic Markers Collaborative Study Group 2003*). En la edad pediátrica, los factores que más influyen en el riesgo de progresión a SIDA son, la edad, el porcentaje de linfocitos CD4+ y la carga viral (**Fig. 1.7**). Estos marcadores no permiten sin embargo predecir el riesgo de desarrollar SIDA y muerte en los menores de un año, en los que el riesgo de desarrollar SIDA es especialmente elevado (20-30 %) y disminuye a partir de entonces al 2-3 % anual. Si comparamos a dos niños, uno de un año de edad con otro de 5 años, con igual porcentaje de linfocitos CD4+, del 25%, el de un año tiene aproximadamente 4 veces más riesgo de muerte que el de 5 años. Respecto al porcentaje de linfocitos CD4+, se trata del factor con el que mejor se ha establecido el riesgo de progresión a SIDA (*De Martino 1999*). En todas las edades, el riesgo es especialmente alto cuando desciende por debajo del 15-20%. Respecto a la carga viral, el riesgo aumenta claramente, concretamente se duplica, con valores por encima de 100.000 copias/ml (*Mofenson 1997*), pero la correlación es

menos intensa a la observada con el porcentaje de CD4+. Actualmente, conociendo el porcentaje de CD4+, los valores de carga viral y la edad del niño se puede estimar el riesgo probable de progresión clínica a SIDA o muerte a los 6 y 12 meses en niños infectados no tratados o en monoterapia (disponible en la página www.pentatrials.org). Esta estimación del riesgo de progresión clínica procede de un metaanálisis de datos longitudinales de 3.941 niños seguidos en 8 estudios de cohorte y 9 estudios aleatorizados en Europa y Estados Unidos (Barnhart 1996) (**Fig. I.7**). En este análisis, tanto el porcentaje de CD4+ como la carga viral son predictores de progresión independientes, aunque el porcentaje de CD4+ es un predictor más potente, y por ello es el principal marcador a tener en cuenta en las decisiones terapéuticas (Dunn 2003, De Martino 1999).

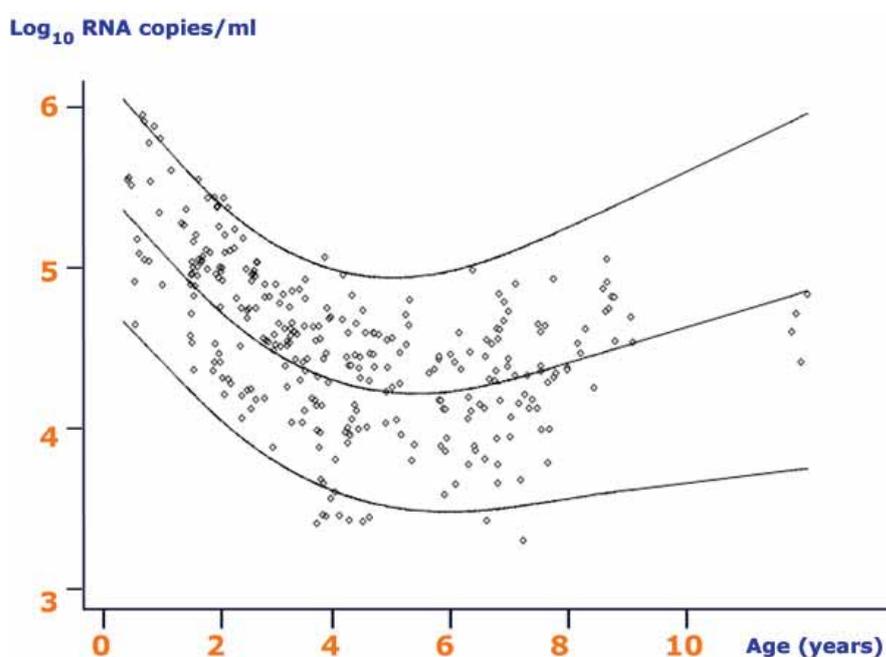
Figura I.7. Riesgo de muerte en los 12 meses por edades, en función de las cifras umbral de CD4%, CD4 total y linfocitos totales (TLC).



4) En el niño, se detectan cargas virales elevadas durante los dos primeros años de vida, alcanzando el zénit entre los 2-4 meses de vida con valores medios entre 5 y 6 \log_{10} copias/ml, y no se estabilizan hasta pasados los 2-4 años en valores entre 4 y 5 \log_{10} copias/ml (Palumbo 1995, DeRossi 1996, Shearer 1997, Gibb 1998) (**Fig. I.8**). La reducción de la carga viral es mayor durante los primeros 12-24 meses de vida (0,6 \log_{10} /año) y más lenta posteriormente (0,3 \log_{10} /año) (PENTA 1998). En

contraste, en los adultos infectados la replicación viral se estabiliza a un nivel bajo (set-point) en los 6-12 meses que siguen a la infección aguda. Ello refleja la inmadurez del SI en los niños infectados por el VIH, que es incapaz de contener la replicación viral al mismo nivel que ocurre en los adultos. En los niños infectados el riesgo de alteración inmunológica y progresión de la enfermedad se cuadruplica por cada aumento de 1-log en la carga viral durante el primer año de vida (Abrams 1998).

Figura I.8. Carga viral del VIH (\log_{10} ARN-VIH) en relación a la edad en niños infectados por el VIH-1 no tratados. (Gibb 1998)



5) De forma natural, la función tímica está presente durante los primeros años de vida. Los niños tienen una mayor susceptibilidad al efecto citopático del VIH sobre el timo en desarrollo; se conoce que los niños con un perfil inmunofenotípico linfocitario sugestivo de disfunción tímica ($CD4^+ < 1900/mm^3$ y $CD8^+ \leq 850/mm^3$) durante los primeros 6 meses de vida, tienen una mayor progresión de la enfermedad por VIH en comparación con los niños infectados que no presentan dicho perfil (Kourtis 1996). En contrapartida, y a diferencia del adulto cuyo timo ha involucionado, el niño tiene potencialmente mayor capacidad de recuperación del sistema inmune siempre que el timo recupere su función con la supresión de la replicación del VIH (Lee 2006).

6. Diagnóstico y clasificación de la infección por el VIH

- Diagnóstico de la infección por el VIH

El diagnóstico de la infección VIH debe orientarse por la clínica que manifiesta el paciente y por las alteraciones de laboratorio secundarias a la infección. El diagnóstico se confirma con la identificación del virus o sus proteínas en plasma, tejidos u otros líquidos biológicos, o bien, en niños de más de 18 meses o cuyas madres no estaban infectadas, mediante la identificación de la respuesta específica frente a las proteínas virales.

Determinación de anticuerpos específicos. Son las técnicas de laboratorio que se utilizan para el diagnóstico de la infección (ELISA, Western blot e inmunofluorescencia). Determinan la presencia de IgG frente a las distintas proteínas del VIH, pero no son útiles en el diagnóstico de esta infección en el recién nacido puesto que la IgG que posee éste le es transferida por su madre. Los Ac pasivos frente al VIH pueden persistir hasta los 18 meses, aunque la mayoría de los niños no infectados los perderán alrededor del año de edad. La persistencia de Ac frente al VIH más allá de los 18 meses, en la actualidad, es considerada criterio diagnóstico de infección por VIH en el niño. Toda prueba positiva debe ser confirmada con una segunda determinación y con una prueba de confirmación (Western blot).

Otras pruebas serológicas útiles en el diagnóstico de la infección por VIH en el niño, no están disponibles de rutina: la detección de IgM e IgA específicas frente al VIH, la producción de anticuerpos específicos “in vitro” y ELISPOT, puesto que han quedado totalmente desplazadas por las técnicas de biología molecular.

Hay que destacar la necesidad de realizar el seguimiento de los niños que son hijos de madres infectadas, con el fin de diagnosticar precozmente la infección por VIH.

Detección de antígeno p24. La detección del Ag p24, aunque con una sensibilidad baja, ha resultado ser una prueba de gran utilidad para el diagnóstico de la infección por transmisión vertical en los primeros años de la epidemia.

Detección de material genético del VIH. Las nuevas técnicas de biología molecular basadas en la detección de material genético del virus, en especial la PCR, permiten realizar un diagnóstico precoz de la infección en el recién nacido y el lactante. La

sensibilidad y especificidad de la detección del cDNA del VIH por PCR es del 99 %, después de los 3 meses (*Bremer 1996*) Durante el período neonatal, la sensibilidad es inferior (del 38%), dado que quedan excluidos los niños infectados en el momento del parto cuya PCR se suele positivizar pasados los 15 días de vida. Esta técnica, que ha sido la más utilizada, tiene el inconveniente de que cuando se utilizan los Kits comerciales, no identifica los subtipos no-B del VIH (el subtipo-B es el más frecuente en Europa y América del Norte). Este ha sido el motivo por el cual en España, la única prueba de PCR ADN VIH que se encontraba comercializada, Amplicor-HIV® de laboratorios Roche, ha quedado descatalogada.

El cultivo viral y más comúnmente el co-cultivo viral permiten establecer el diagnóstico precoz de la infección por VIH. La sensibilidad y especificidad de estas técnicas son equivalentes a la PCR y superior a la detección del Ag p24 (**Tabla I.1**), y permiten además el estudio del fenotipo viral, aún cuando tienen el inconveniente del tiempo, dado que se precisa mantener el cultivo un mes para dar los resultados (*Lambert 2003*).

La CV o cuantificación de la viremia plasmática ARN-VIH mediante distintas técnicas de biología molecular (PCR, *branched*, NASBA, y actualmente PCR-*real time*), han representado un importante avance en el control y seguimiento de los niños infectados. Asimismo, y dado que el ARN-VIH en plasma se detecta antes que el ADN proviral integrado en los linfocitos, se ha utilizado en el diagnóstico precoz de la infección en el niño. Las pruebas de PCR de ARN de VIH son igual o más sensibles que las PCR de ADN para el diagnóstico precoz de la infección VIH de transmisión vertical: sensibilidad del 25-50% en los primeros días de vida, y hasta del 100% a las 6-12 semanas (*Lujan 2003, Read 2007*). Actualmente se recomienda realizar un control mediante esta técnica a los 14 días de vida dado que hasta el 93% de los niños infectados en el momento del parto pueden ser diagnosticados a los 14 días de vida.

Por último, mediante las técnicas de amplificación del material genético del VIH, que permiten el genotipado del gen de la transcriptasa y el de la proteasa, podemos identificar las mutaciones asociadas a resistencia a los antirretrovirales disponibles, y subtipar las diferentes poblaciones virales.

Tabla I.1. Comparativa de la sensibilidad de los diferentes tests virológicos para el diagnóstico de la infección por VIH en niños

Método	48h	14días a 2 meses	3 a 6 meses	>6 meses
PCR ADN	38%	93 a 96%	100%	100%
PCR ARN	25-50%	95-100%	100%	100%
Ag p24	10 a 20%	20 a 50%	50%	50%
Cultivo viral	25-40%	90 a 95%	>95%	100%

Se recomienda la realización de una prueba de diagnóstico precoz durante las primeras 48 horas de vida con el fin de identificar los niños con infección prenatal o intrauterina por el VIH; para este control, no deberá utilizarse sangre de cordón por la posible contaminación con sangre materna. Los niños que adquieren la infección durante el parto (aproximadamente un 60-70% de las infecciones por transmisión vertical ocurren en este periodo) tendrán una primera prueba negativa y a partir de la semana de vida puede detectarse la presencia del genoma del VIH.

Toda prueba diagnóstica positiva deberá ser confirmada en una segunda determinación. El diagnóstico de la infección por el VIH se realiza mediante dos pruebas de detección de material genético del VIH positivas (**Tabla I.2**).

La infección por el VIH se descarta mediante dos o más pruebas negativas de detección de material genético del VIH realizadas en dos muestras de sangre independientes después del mes de vida, y una de ellas más allá de los 4 meses. El niño debe continuar en control hasta que desaparecen los anticuerpos maternos. La infección puede excluirse también razonablemente mediante pruebas serológicas (IgG específica) frente al VIH: dos serologías negativas después de los 6 meses separadas al menos por un mes. La infección puede descartarse definitivamente con una serología negativa a los 18 meses, en ausencia de hipogammaglobulinemia o clínica sugestiva de infección VIH y con pruebas de detección del genoma del VIH negativas (**Tabla I.2**).

Los criterios indicados para excluir la infección VIH deben aplicarse solamente para aquellos niños no amamantados por la madre VIH positiva. La lactancia en cualquier período debe considerarse como una nueva exposición al VIH y el niño deberá ser sometido nuevamente a las pruebas diagnósticas.

Tabla I.2. Diagnóstico de la infección por el VIH en niños (CDC.MMWR,1994)

Niños infectados por el VIH:

- A.- Niños de edad inferior a 18 meses que son seropositivos para el VIH o son hijos de madres infectadas por el VIH y:
- Presentan resultados positivos en dos determinaciones separadas *(excluyéndose sangre de cordón), frente a una o más de las siguientes pruebas:
 - Cultivo o cocultivo para el VIH
 - PCR para el VIH
 - Antígeno VIH (p24).
 -
 - cumplen criterios clínicos de diagnóstico de SIDA, basados en la definición de caso de SIDA de 1987 (CDC,1987).
- B.- Niños de edad superior o igual a 18 meses hijos de madres infectadas por el VIH o niños infectados por sangre, productos sanguíneos u otros mecanismos conocidos de transmisión (contacto sexual) que:
- Presentan anticuerpos persistentemente positivos para el VIH por enzoinmunoanálisis (EIA-ELISA) y por test confirmatorios (ej. Western Blot o Inmunofluorescencia),
 -
 - Cumplen cualquiera de los criterios expuestos en A.

Niños expuestos perinatalmente:

Niños que no cumplen los criterios de infección mencionados hasta ahora, que:

- Son seropositivos por ELISA y test confirmatorios (ej. WB o IFA) y son menores de 18 meses en el momento de efectuar la prueba.
-
- Se desconoce su seroestatus pero son hijos de una madre infectada por el VIH.

Niño serorevertidos:

Niños hijos de una madre infectada por el VIH y que :

- Son seronegativos para el VIH (ej: dos o más ELISAS negativos realizados entre los 6 y 18 meses de edad, o un test negativo después de los 18 meses);
- y**
- No han presentado ninguna otra prueba de laboratorio que evidencie la infección VIH (no han presentado dos pruebas de detección viral positivas, si fueron realizadas)
- y**
- No presentan ninguna condición de definición de SIDA.

*** Ambas determinaciones deben ser realizadas al mes de vida o más allá y al menos una determinación después de los 4 meses. (En la actualidad para favorecer el tratamiento precoz se están valorando estos criterios).**

- Manifestaciones clínicas. Historia natural de la infección VIH de transmisión vertical.

La historia natural de la enfermedad VIH en niños infectados por transmisión vertical está cambiando con la introducción del tratamiento antirretroviral; sin embargo, debemos recordar cual es la clínica que presentarán aquellos niños que no se han beneficiado de un diagnóstico y tratamiento precoces.

Puesto que la mayoría de los niños adquieren la infección en las últimas semanas del embarazo o en el momento del parto, son asintomáticos al nacer (*European Collaborative Study 2001*). Los recién nacidos con sintomatología sugestiva de infección VIH (adenomegalias, hepatomegalia, esplenomegalia) tienen un elevado riesgo (40%) de progresar a SIDA antes del año (*Mayaux 1996*). El periodo de incubación de la infección VIH por transmisión vertical se sitúa como media en 4-5 meses (mediana 5 meses) a diferencia de los 4,4 años post-infección de los adultos. La sintomatología clínica es inespecífica e incluye, entre otras manifestaciones: las linfadenopatías (en especial axilares e inguinales), la candidiasis oral, la hepatomegalia, la esplenomegalia y la dermatitis o eccema seborreico. La incidencia de estas manifestaciones es mucho más elevada en los niños infectados que en los lactantes expuestos no infectados. A éstas manifestaciones se asocia con frecuencia una escasa ganancia de peso o detención del crecimiento (*Newell 1994, Galli 1995*). Algunos niños, entre el 15 y el 25%, presentan una forma de enfermedad con peor pronóstico y progresión más rápida, caracterizada por infecciones bacterianas graves (sepsis, neumonías, abscesos, meningitis) así como enfermedades diagnóstico de SIDA (infecciones oportunistas, encefalopatía asociada al VIH), antes de cumplir los 12 meses de vida, con una supervivencia inferior a 2 años.

La edad media de progresión a SIDA en pacientes con infección VIH por transmisión vertical es de 4 a 6 años, en contraposición a los 9,8-15 años desde que contraen la infección los adultos. El riesgo de desarrollar SIDA, es especialmente alto durante el primer año de vida (10-30 %) y disminuye a partir de entonces al 2-3 % anual. En estudios de cohortes, prospectivos, de pacientes pediátricos con infección VIH por transmisión vertical que no habían recibido TAR, realizados tanto en USA como en Europa, entre un 20 y un 36% de los pacientes desarrollaron SIDA entre el primer y segundo año de vida, y entre el 36 y el 50%, entre los 4-6 años (*Barnhart 1996*). A pesar de que no todos los pacientes presentan criterios clínicos de SIDA, la

mayoría de los niños, entre el 69 y el 96% del total según las series, presentan síntomas o signos asociados a la infección VIH durante el primer año.

En ausencia de tratamiento antirretroviral la mortalidad asociada al VIH es elevada durante el primer año (6-16%), decreciendo un 3,5% anual hasta los 7 años, para incrementarse de nuevo a partir de esta edad. La supervivencia mediana de los pacientes pediátricos que no recibieron tratamiento se sitúa entre los 7,1 y los 8 años. La primera causa de mortalidad en los pacientes pediátricos es la neumonía por *Pneumocystis jirovecii* en especial durante el primer año de vida, la infección por *Mycobacterium avium*, y las infecciones bacterianas (Blanche 1997).

Se analizan a continuación las manifestaciones clínicas más frecuentes de la infección por VIH en la edad pediátrica, algunas de ellas son utilizadas para la clasificación de la enfermedad que explicaremos a continuación.

Manifestaciones inespecíficas. Presentes en la mayoría de los niños infectados: linfadenopatías (bilaterales: región axilar, inguinal, laterocervicales, etc.), hepatomegalia, esplenomegalia, candidiasis oral, dermatitis eczematosa, retraso pondostatural y/o pérdida ponderal, fiebre y diarrea inespecífica. En la última clasificación de la infección por VIH en los niños (CDC, 1994), han sido establecidos los nuevos criterios para definir el síndrome de emaciación o caquéctico (*wasting syndrome*) secundario a la infección por VIH, el cual incluye pérdida de peso, retraso pondoestatural, fiebre y diarrea inespecífica cuando adquieren la gravedad que su definición establece.

Infecciones bacterianas. Son características de la infección por VIH en el niño. Se trata de infecciones graves y, en ocasiones, recurrentes, como neumonía, sepsis, abscesos y celulitis. Los gérmenes más frecuentemente aislados son: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, *Pseudomonas* sp (estos dos últimos más habituales en pacientes hospitalizados). Las infecciones del tracto respiratorio superior (otorrinolaringológicas: otitis y sinusitis), las diarreas (*Salmonella* y *Campylobacter*), las infecciones urinarias y las infecciones cutáneas son comunes en estos pacientes.

Neumonía intersticial linfoide (NIL). Esta entidad es criterio diagnóstico de SIDA en niños menores de 13 años. Existe una variante nodular: la hiperplasia pulmonar linfoide. Más de la mitad de los niños con SIDA presentan NIL en el curso de su vida. Se trata de una afectación pulmonar por infiltración de células linfoides y plasmáticas a la altura de los septos alveolares y peribronquiolares. El infiltrado es bilateral, de características reticulonodulares, que afecta predominantemente la región parahiliar. Se acompaña a menudo de adenopatías hiliares y mediastínicas. La infiltración es progresiva, lo cual confiere el carácter crónico a la entidad. La clínica difiere entre unos pacientes y otros; aunque puede presentarse precozmente, en la mayoría de los niños se establece el diagnóstico después del primer año. Puede existir cierto grado de hipoxemia (*clubbing*), tos, taquipnea y la auscultación pulmonar suele mostrar signos de espasticidad. En niños afectados de NIL se ha demostrado la presencia en tejido pulmonar de DNA del virus Epstein-Barr (VEB) y RNA del VIH. Muchos de estos niños poseen títulos altos de anticuerpos frente al VEB. Se especula que el citado virus puede desempeñar un importante papel en la etiopatogenia de esta entidad.

Manifestaciones neurológicas. Se ha propuesto un nuevo término para definir la afectación del SNC secundaria a esta infección: *encefalopatía progresiva de la infancia asociada al VIH*. La forma más grave, aunque no la más común de este cuadro, tiene un curso progresivo-subagudo que afecta predominantemente a lactantes y niños pequeños; Se caracteriza por un deterioro progresivo de las funciones de las áreas cognitiva, motora y del lenguaje, y de las funciones adaptativas, con una pérdida de las adquisiciones conseguidas y disminución de gestos y vocalizaciones; a menudo se acompaña de apatía, falta de interés por el entorno o aumento de la hiperactividad y labilidad emocional (irritabilidad) y es característica la tetraparesia espástica con afectación pseudobulbar o sin ella. La forma más frecuente de afectación neurológica de los niños con infección por VIH (anteriormente encefalopatía estática) se caracteriza por un curso más insidioso. Son niños que no alcanzan el desarrollo esperado para su edad, con un retraso más o menos importante, un cociente intelectual bajo, sin presentar en ningún momento pérdida de adquisiciones. Pueden presentar déficits motores asociados a las alteraciones cognitivas. A medida que la enfermedad por VIH avanza, el deterioro neurológico es más importante.

La incidencia de manifestaciones neurológicas en los niños con infección por VIH varía según los estudios. Aproximadamente, el 20 % de los niños presentan clínica de encefalopatía secundaria al VIH, y en el 12 % de los casos es la primera manifestación diagnóstica de SIDA. Las manifestaciones neurológicas se relacionan con un peor pronóstico de la enfermedad.

Infecciones oportunistas. Se presentan en general cuando el deterioro de la inmunidad celular es importante. La infección oportunista más frecuente en niños infectados por el VIH es la neumonía por *Pneumocystis jirovecii*. Es la enfermedad índice más frecuente en el diagnóstico del SIDA infantil, consiguiéndose reducir el número de episodios tras la introducción de la profilaxis primaria de la misma. Debe establecerse el diagnóstico diferencial con la NIL, dada la mayor gravedad del cuadro clínico; en la neumonía por *Pneumocystis jirovecii* no son frecuentes los hallazgos patológicos en la auscultación. La clínica característica de tos, taquipnea progresiva, disnea y fiebre, suele estar presente. La radiografía de tórax muestra la presencia de infiltrados bilaterales, pero puede ser normal al inicio. Existe una importante elevación de los niveles de láctico-deshidrogenasa sérica. Tiene una elevada morbimortalidad, en especial cuando se presenta en lactantes pequeños y, en muchos casos, es la primera manifestación de la enfermedad, lo cual ha dado pie a que en la actualidad se recomiende la profilaxis frente a *Pneumocystis jirovecii* a todos los hijos de madres con infección por VIH, hasta que ésta pueda ser descartada. Puede asociarse a otras infecciones: sobreinfecciones bacterianas en los niños con ventilación mecánica y/o virales, en especial por CMV.

Otras infecciones oportunistas son candidiasis esofágica, criptosporidiasis, infección diseminada por CMV (neumonía, esofagitis, coriorretinitis, etc.), toxoplasmosis, micobacteriosis atípicas e infección diseminada por herpes virus. La criptococosis, la tuberculosis y la leucoencefalopatía multifocal ocurren en menos del 1 % de los niños infectados.

Otras infecciones. Pueden presentarse concomitantemente otras infecciones virales, como varicela, con un curso generalmente más grave, herpes zoster, rubéola y sarampión con evolución mortal en algunos casos, e infección por VEB. Dada la gran morbimortalidad del sarampión en este grupo de pacientes, debe procederse a una inmunización sistemática frente a este virus y administrar una dosis de recuerdo, si los títulos tras la vacunación no son protectores.

Las infecciones virales frecuentes en la edad pediátrica revisten mayor gravedad en los niños con infección por VIH, en especial las neumonías (virus respiratorio sincitial, adenovirus, parainfluenza e influenza) y gastroenteritis (enterovirus).

Neoplasias. Poco frecuentes en pediatría, el sarcoma de Kaposi se ha diagnosticado en algunos niños; su incidencia es baja, al igual que la de los linfomas no hodgkinianos tipo B (linfoma de Burkitt) y el linfoma primario del SNC. El aumento de la supervivencia de los niños infectados ha condicionado un incremento de las neoplasias en la infección por VIH pediátrica en los últimos años; sin embargo, se desconoce el efecto de los nuevos tratamientos sobre estas enfermedades. En los niños tratados con ZDV se ha observado un aumento de tumores de estirpe muscular (leiomiomas-leiomiosarcomas).

Otras manifestaciones. *Hepatitis:* objetivable por elevación de las transaminasas; histopatológicamente cuadro superponible a hepatitis crónica activa o hepatitis de células gigantes, cuyo responsable directo es probablemente el propio VIH. Debe diferenciarse de la hepatitis que pueden presentar los niños con infección por VIH, coinfectados por otros virus hepatotropos, como los virus de las hepatitis B y C. *Nefropatía:* en muchos niños se observan alteraciones del sedimento urinario. En algunos de ellos se ha constatado proteinuria con hipoalbuminemia y edemas: síndrome nefrótico, que puede evolucionar hacia la insuficiencia renal terminal. La biopsia renal puede evidenciar glomerulosclerosis focal o glomerulonefritis mesangial proliferativa. *Alteraciones cardíacas:* miocarditis y miocardiopatías, que suelen abocar a una insuficiencia cardíaca congestiva. Se han descrito también arritmias. *Alteraciones digestivas:* pancreatitis, hidropesía vesicular, síndrome de malabsorción. Estas alteraciones interfieren en el estado nutricional. La infección por el VIH favorece otras infecciones; sin embargo, ha sido demostrado el efecto patógeno directo del VIH sobre el tubo digestivo. *Vasculitis, neuritis, miositis:* debidas a efecto directo del VIH sobre estas estructuras. *Afectación ocular:* en general secundaria a infecciones de la retina. *Alteraciones hematológicas:* son frecuentes en los niños con infección por VIH. Muchas de ellas como resultado de las alteraciones inmunológicas que facilitan, con más frecuencia, en estos pacientes las enfermedades autoinmunes. Cabe destacar: trombocitopenias (en general periféricas), anemias (en ocasiones, Coombs positiva), leucopenia y neutropenias, y alteraciones de la coagulación como resultado de factores anticoagulantes circulantes.

- Clasificación de la infección por el VIH en la edad pediátrica.

Los Centros para el Control de las Enfermedades (CDC), establecieron en el año 1994 un sistema de clasificación de la enfermedad VIH para los menores de 13 años, que tiene en cuenta tanto la situación clínica como inmunológica de los niños (**Apéndices 1 y 2**). La clasificación, incluye también los criterios necesarios para el diagnóstico de la infección. Los CDC definen 4 categorías clínicas mutuamente excluyentes: **N** (para pacientes asintomáticos o con una única manifestación de las consideradas en el siguiente estadio), **A** para definir a los pacientes con sintomatología leve, que incluye la mayoría de manifestaciones inespecíficas de la infección VIH, **B** sintomatología moderada y por último **C**, que define los pacientes con formas más graves de enfermedad o criterios diagnósticos de SIDA, a excepción de la NIL. La NIL, es una manifestación patognomónica de la infección VIH pediátrica, que aún considerándose criterio de SIDA (en la clasificación de los CDC de 1987), tiene un curso más benigno que el resto de condiciones y por este motivo se incluyó en la categoría B de la clasificación de los CDC de 1994. Los pacientes suelen progresar de una categoría a otra de forma escalonada, aún cuando algunos de ellos pueden pasar directamente de categoría N o A a la C. Esta misma clasificación tiene en cuenta la situación inmunológica y para ello establece en función de la edad (<1 año, de 1-5 años y 6-12 años), y el porcentaje y/o número absoluto de linfocitos CD4, tres categorías: **1** (para los niños sin alteraciones del porcentaje o recuento de CD4), **2** con inmunodeficiencia moderada y **3** que incluye aquellos pacientes con recuentos y/o porcentajes más bajos de CD4. Por lo tanto los pacientes se clasificaran utilizando la letra que defina su situación clínica y el número que determine su situación inmunológica: N1, N2, N3, A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 y C3.

En términos generales, los niños presentan antes de los 12 meses sintomatología propia del estadio A y a partir del segundo año progresan con manifestaciones clínicas definidas en la categoría B, donde por término medio en ausencia de tratamiento los niños se mantienen durante 5 años. Los pacientes con formas más graves de enfermedad y en ausencia de tratamiento (Categoría C) tienen una supervivencia media de 34 meses, situándose la mediana de supervivencia en esta categoría en 2 años (*Tovo 1992*).

Los niños con varias manifestaciones clínicas a lo largo de su vida, serán incluidos dentro de la categoría clínica que contemple la manifestación más grave y del estadio inmunológico correspondiente al recuento y/o porcentaje (siempre confirmado) menor

de linfocitos CD4+. Actualmente aún cuando los pacientes presenten una regresión de su sintomatología y una normalización del recuento de sus CD4+, no modifican su estadio clínico-inmunológico.

En resumen la infección VIH en los niños es una infección sintomática y sólo entre el 6-15% de los niños infectados por transmisión vertical no presentan clínica antes de los 5 años. Las manifestaciones clínicas pueden tener en niños mayores un menor valor predictivo para determinar la evolución de la enfermedad VIH, en comparación con el recuento-porcentaje de linfocitos CD4+ o la carga viral, que son de fácil y rápida obtención, por lo que siempre deben ser tenidos en cuenta. En aquellos países con pocos recursos la clínica guiará la indicación del TAR, tal y como establecen las actuales recomendaciones para el tratamiento antirretroviral de la OMS, basadas fundamentalmente en criterios clínicos (www.who.int/hiv/pub/guidelines).

7. Tratamiento de la infección por el VIH

- Terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA)

Es el tratamiento específico frente al VIH. Tiene por objetivo impedir la replicación del virus y con ello evitar el deterioro inmunológico. Debido a la elevada tasa de replicación y mutación del VIH, debe ser un tratamiento combinado. No obstante y debido a la elevada carga viral que presentan los niños, el control completo de la replicación viral es difícil de conseguir (*Faye 2002*).

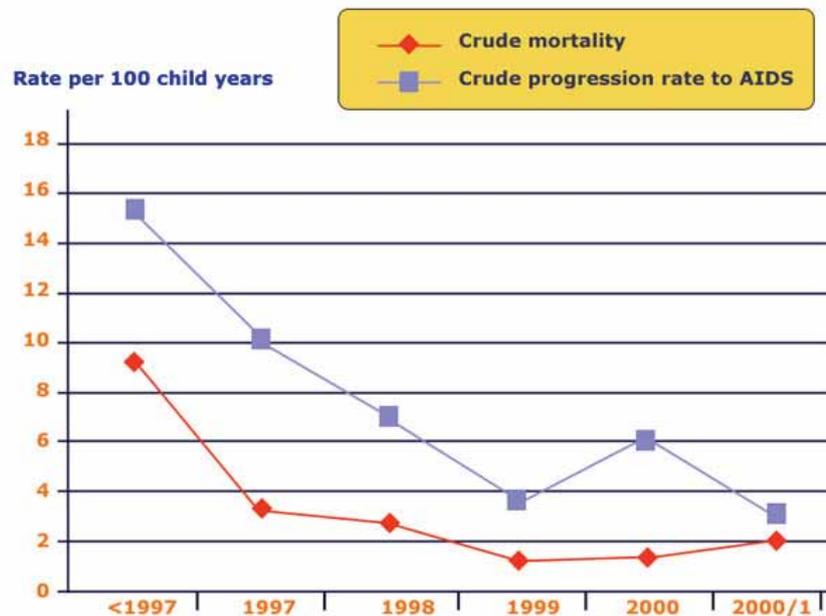
Los ARV disponibles en la actualidad no permiten erradicar el VIH ni curar la infección. La capacidad del virus de integrarse en la célula es la clave para entender la dificultad de que éste pueda ser erradicado del huésped infectado. Se estima que, aún con una CV (ARN-VIH) en plasma mantenida por debajo de los límites de detección de las técnicas habituales (<20 copias/ml) por un largo periodo de tiempo, el ADN proviral del VIH se mantiene integrado en el genoma de ciertas células con una vida media larga (los macrófagos), en algunas de ellas casi de por vida. Además los ARV no penetran por igual en todos los tejidos, por lo que en algunos de dichos tejidos pueden acumularse parte de las células infectadas con escaso acceso de los ARV. Son los llamados santuarios del VIH, ubicados en el sistema nervioso central y los testículos (*Saitoh 2002, Siliciano 2003*). Por ello, si un paciente (niño o adulto) suspende el tratamiento, la CV volverá a aumentar a niveles parecidos a los que existían antes de iniciar el TAR en una o dos semanas. Y ello ocurre a pesar de que el paciente haya tenido una carga viral indetectable durante años.

La supresión completa y mantenida de la replicación viral, por debajo de los límites de detección de los métodos actuales tiene por objetivo evitar el deterioro del sistema inmunológico y favorecer su recuperación o reconstitución. Asimismo, el control de la replicación viral, previene el desarrollo de mutaciones que confieren resistencia a los ARV, dada la capacidad del virus para acumular errores durante su replicación, errores que pueden manifestarse por una resistencia farmacológica. El grado y la velocidad a la que se desarrollan las resistencias a un fármaco en concreto dependen de las características de cada fármaco (llamada barrera genética de resistencia) así como de la potencia del régimen del cual el fármaco forma parte.

Existen en la actualidad cinco familias de ARV, con acción en diferentes puntos del ciclo del VIH. Los inhibidores de la transcriptasa inversa, que pueden ser análogos de nucleósidos o de nucleótidos (ITIAN) o no análogos (ITINN), los inhibidores de entrada, los inhibidores de la integrasa y los inhibidores de proteasa (IP). Históricamente, hasta mediados de los años 90, sólo se disponía de un fármaco, la zidovudina (ZDV), que es un ITIAN. Los tratamientos duales (con dos fármacos) se introdujeron en 1996/1997, tras los resultados de ensayos clínicos en adultos que demostraban su superioridad en términos de progresión de la enfermedad a SIDA y mortalidad comparado con la monoterapia (*Hammer 1996*). En 1997/1998, el TAR triple o cuádruple (que incluye fármacos de dos familias distintas) demostró su superioridad respecto al tratamiento dual, con un mayor control de la replicación viral (*Gulick 1997, Cameron 1998*). La combinación de al menos tres fármacos de dos familias de ARV distintas recibe el nombre de terapia antirretroviral de gran actividad o TARGA. Se dispuso de TARGA por primera vez en niños en 1998 con la aparición del primer IP (ritonavir y posteriormente nelfinavir), seguido de los primeros no análogos (ITINN), la nevirapina y el efavirenz.

En la última década el mejor conocimiento de la enfermedad, la identificación precoz de los pacientes infectados y la introducción de la profilaxis de las infecciones oportunistas, han determinado una reducción de la mortalidad de los pacientes con infección VIH pediátrica. No obstante, la mejora más espectacular en el pronóstico de la enfermedad VIH se debe a la introducción de TARGA, permitiendo controlar de forma sostenida la replicación viral; en la mayoría de los casos, este efecto se acompaña de un aumento del número de linfocitos CD4+ circulantes, muy superior al observado tras tratamientos sub-óptimos con mono o biterapia con ITIAN. Todo ello ha conducido a una reducción en la mortalidad, morbilidad y hospitalizaciones asociadas a la infección por VIH, no sólo en adultos sino también en la edad pediátrica (reducción de la mortalidad: del 5% en 1995-1996 al 1% en 1998) (*Gibb 2003 (a), Gortmaker 2001*) (**Fig. I.9**). De hecho, la infección VIH ha dejado de ser una patología mortal a corto y medio plazo, para constituirse en una nueva enfermedad crónica.

Figura I.9. Reducción de la progresión a SIDA y la mortalidad con las nuevas terapias antirretrovirales en niños (Gibb,2003(a)).



La respuesta al TAR se evalúa según el descenso conseguido en la CV y el incremento de los linfocitos CD4+. La CV se expresa en logaritmo en base 10 (\log_{10}). Así, si un tratamiento produce una disminución de CV de 100 veces, es decir, del 99%, el resultado se expresa como una caída de $2 \log_{10}$. Se considera significativa cualquier variación de la CV mayor a $0,5 \log_{10}$ en el adulto y a $0,7$ en los pacientes pediátricos. En la edad pediátrica, el control sostenido de la CV con TARGA ocurre con menos frecuencia que en adultos; además, a menor edad, peor es el control de la replicación viral (PENTA 2004). Respecto a los linfocitos CD4+, con las nuevas terapias TARGA que incluyen IPs, se observa un incremento mantenido de los linfocitos CD4+ (Resino 2003). Estos cambios cuantitativos de los CD4+ están acompañados de cambios cualitativos en la respuesta inmunitaria y disminución del riesgo de infecciones oportunistas (Powderly 1998).

Las recomendaciones sobre cuándo iniciar el TAR en la edad pediátrica se basan en ensayos clínicos que se han llevado a cabo por las dos principales redes de VIH pediátrico, PACTG (Pediatric AIDS Clinical Trial Group) en EEUU y PENTA (Paediatric European Network for treatment of AIDS) en Europa. El objetivo de ambas organizaciones es recabar información en base a ensayos clínicos sobre la práctica clínica más adecuada en la infección por VIH pediátrica. La dificultad de conseguir CV indetectables en niños (*Walker 2004*), junto con la evidencia de toxicidad de los ARV (*Leonard 2003*), han hecho que las indicaciones de inicio y cambio de TAR en niños, nacionales (*Fortuny 2008*), europeas (*Sharland 2004*) o americanas (Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. Disponible en <http://www.hivatis.org>), sean hoy más conservadoras a partir del año de vida. En éste grupo, los marcadores inmunológicos, fundamentalmente el porcentaje de linfocitos CD4+, y los marcadores clínicos guiarán tanto la indicación de inicio como el cambio del TAR. Las recomendaciones que aparecen en las guías PENTA, se basan en la estimación del riesgo de progresión de SIDA y muerte según los porcentajes de CD4+ y de CV. Dichas guías recomiendan iniciar el tratamiento manteniendo el riesgo de progresión a SIDA en un año en menos del 10% y de muerte de menos del 5%.

La indicación del inicio del TAR es diferente según la edad ya que se considera a los niños menores de 12 meses como grupo de riesgo. A esta edad, la inmadurez inmunológica implica un mayor riesgo de progresión de la enfermedad por VIH y de encefalopatía, sin que la carga viral ni el recuento de linfocitos CD4+ se hayan mostrado válidos como marcadores de dicho riesgo. Las Recomendaciones Españolas respecto al TAR en niños infectados por el VIH (*Fortuny 2008*) y la mayoría de Guías Internacionales de tratamiento en población pediátrica, recomiendan iniciar TARGA en los menores de 12 meses en todos los casos. En los mayores de un año, la indicación de iniciar TARGA dependerá de la situación clínica, inmunológica y virológica. En cualquier caso, una vez se inicia TARGA, ésta se mantendrá de por vida.

Dicha recomendación se sustenta en los resultados de estudios que demuestran que:

- 1) En la edad pediátrica la progresión de la enfermedad por VIH es más rápida que en los adultos, y ni la CV ni el recuento de CD4+ se han mostrado válidos como marcadores del riesgo de progresión en los menores de 12 meses.

2) La instauración precoz de TARGA minimiza el daño inmunológico que produce el VIH durante los primeros meses de infección.

3) Los niños menores de 12 meses presentan una situación de "primoinfección", y por lo tanto tienen la posibilidad de conseguir una respuesta óptima y prolongada con la terapia precoz, evitando el deterioro tímico y la afectación del sistema nervioso central (*Luzuriaga 2004*).

4) Los IP pueden ejercer un efecto directo sobre la recuperación inmunológica, que en parte depende de una mayor potencia para reducir la carga viral (*Gortmaker 2001*).

- Reconstitución inmunológica con TARGA

Hasta la fecha, se ha avanzado notablemente en el conocimiento de la recuperación o reconstitución que se produce en el SI de los pacientes que inician TARGA. Dicha recuperación se puede analizar en dos aspectos: la repoblación celular de linfocitos CD4+ (cuantitativa) y la reconstitución de la inmunidad celular y humoral (cualitativa o funcional). En la práctica clínica, el recuento de CD4+ se utiliza para la valoración del grado de recuperación o deterioro inmune por ser fácilmente cuantificable, y permitir tomar decisiones sobre la retirada o introducción de quimioprofilaxis para agentes oportunistas; sin embargo, su número no refleja necesariamente el deterioro inmunológico propiciado por el VIH, siendo más fiable el análisis funcional de la inmunidad.

Gran parte del conocimiento de la dinámica de la reconstitución inmune (RI) se basa en estudios llevados a cabo en adultos. Los resultados observados en la recuperación inmune con TARGA han sido realmente alentadores, y por ello se han planteado nuevas posibilidades terapéuticas de base inmunológica, con la idea de que el SI preservado sea capaz de conseguir el control total o parcial de la replicación viral. A continuación, se exponen los resultados más relevantes sobre las características de la RI en adultos:

1) El rápido aumento de las células CD4+ tras iniciar el tratamiento TARGA (2-12 semanas) es debido en gran parte a las células T memoria (CD45RO), que provienen de la redistribución desde los tejidos a sangre periférica.

2) El aumento de células T vírgenes o naive (CD45RA) sólo se produce tras 4-6 meses de control de la replicación viral (cinética bifásica de la repoblación CD4) (Wu 2001).

3) Las células T vírgenes son de origen tímico. El TREC ha sido utilizado como marcador específico de la función tímica y puede cuantificarse en sangre periférica. Se ha observado una correlación positiva entre los niveles de TREC en sangre periférica, el incremento de la población CD45RA y la masa tímica y una correlación negativa de los mismos con la CV (Touloumi 2004). Se deduce que la repoblación con linfocitos vírgenes se produce a partir del timo, siempre y cuando la carga viral esté controlada.

4) El timo y las células T vírgenes juegan un papel fundamental en la RI. Los adultos que son capaces de recuperar parte de la función tímica y así producir CD45RA, tienen una progresión de la infección por VIH más lenta. Ello permite especular sobre la posibilidad de introducir la inmunoterapia con el objetivo de potenciar la función tímica en pacientes infectados (Touloumi 2004).

5) El TARGA puede conseguir no sólo una repoblación CD4, sino una verdadera reconstitución de la funcionalidad del SI, con reaparición de la actividad linfoproliferativa a diferentes agentes antimicrobianos (candidina, estreptocinina, toxoide tetánico) (Resino 2004). Dentro de la recuperación funcional de los linfocitos, se ha objetivado asimismo una recuperación de la inmunidad específica de los linfocitos CD4+ y CD8+ frente al VIH, llamada "autovacunación", que es de vital importancia para asegurar un control de la replicación viral a largo plazo, aún suprimiendo la TARGA. La respuesta proliferativa específica de los CD4+ (Boritz 2003), presenta una correlación negativa con la carga viral. Una respuesta intensa puede observarse sólo a largo plazo en pacientes con infección por VIH que no progresa.

En la edad pediátrica la RI tras TARGA potencialmente sería mayor que en adultos dado que el timo se mantiene funcionando durante la infancia (Mackall 1995, Hulstaert 1994). En efecto, los estudios realizados muestran diferencias significativas en la RI en el niño con respecto al adulto:

1) La repoblación CD4 se produce principalmente con células T vírgenes CD45RA (representando hasta un 78% de los CD4+ totales) que proceden del timo (Gibb 2000, De Rossi 2002) (Fig. I.10, y I.11).

Figura. I.10. Evolución de los niveles de TREC en células mononucleadas y linfocitos CD4+ en sangre periférica tras el inicio de TARGA en niños.

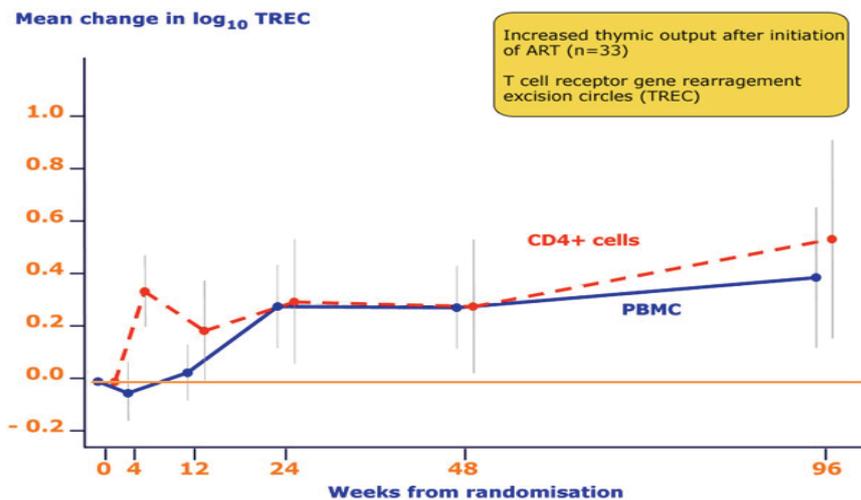
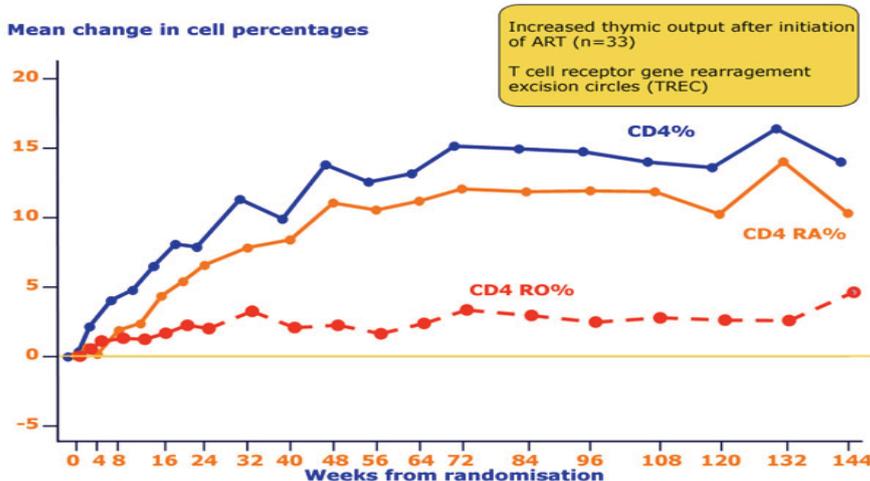


Figura I.11. Repoblación CD4+. Análisis de las subpoblaciones de células naive y memoria tras inicio de TARGA en niños. (De Rossi 2002).

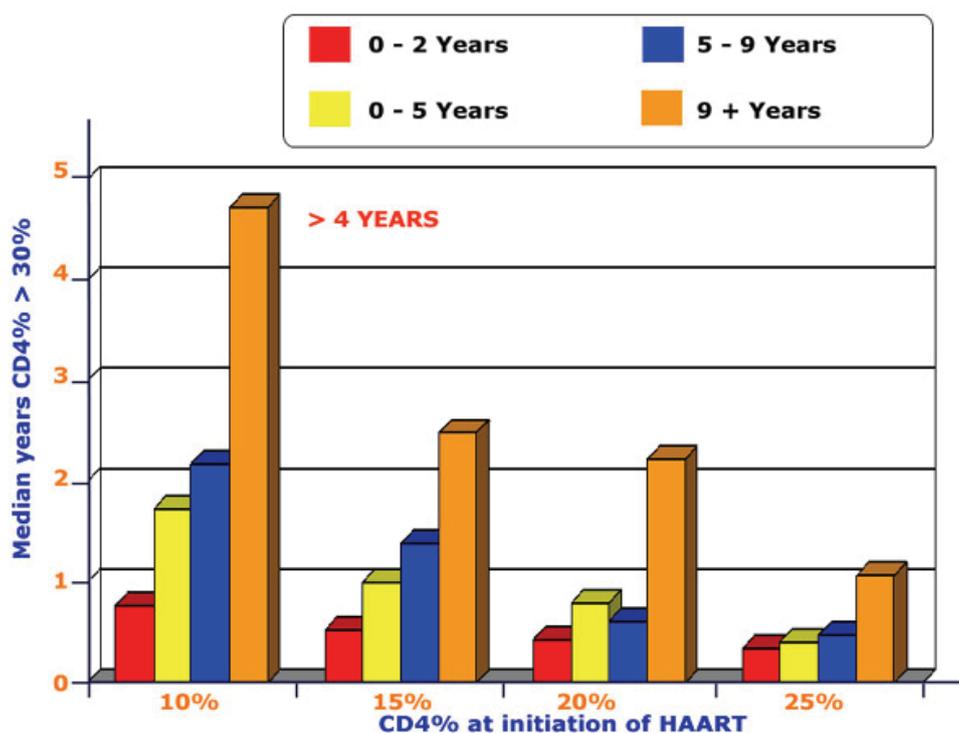


2) Dicha repoblación puede aparecer incluso en ausencia de control de la CV y en fases avanzadas de la enfermedad (Kovacs 2005).

3) A mayor depleción de linfocitos CD4+ previo al inicio del TAR, mayor es el rendimiento del timo, observándose niveles más altos de TREC en sangre periférica (De Rossi 2002). En efecto, el timo ejerce un papel clave en la homeostasis de los linfocitos T, y por ello, a mayor depleción celular en la periferia, mayor actividad del timo para repoblar las células.

4) Los factores que predicen la respuesta a TARGA son la edad al inicio del tratamiento y los CD4+ basales. A menor edad y cifra de CD4+ basal más baja, mayor es la repoblación CD4+. En niños menores de 2 años con CD4+ basal $\leq 25\%$, el tiempo medio en alcanzar unos CD4 $\geq 30\%$ es de 12 meses, tiempo que aumenta progresivamente en niños mayores y conforme aumentan los CD4+ basales. En cambio, ni la carga viral ni el estadio clínico preTARGA influyen en la respuesta inmunológica al tratamiento (Walker 2004) (**Fig. I.12**).

Figura I.12. Respuesta a TARGA. Tiempo tras TARGA para alcanzar cifras de CD4% del 30% en relación a la edad y los CD4+ basales (Walker 2004).



5) La repoblación CD4+ se presenta en dos fases: una primera, 0-12 meses, con un rápido incremento de CD4+, del 9% en los primeros 6 meses y del 4% en los siguientes 6 meses y una segunda fase a partir del año, con un incremento de los CD4+ del 2% (Walker 2004, Soh 2003).

6) Existe asimismo una reconstitución funcional de los linfocitos, pero con ciertas diferencias respecto al adulto: la respuesta proliferativa de los linfocitos T a mitógenos es mayor, dado que dicha respuesta está relacionada con la presencia de células *naive*, que son las predominantes en la RI pediátrica (Resino 2003); en cambio, la respuesta a antígenos microbianos es parcial, por la falta de recuperación de la memoria inmunológica.

7) En cuanto a la inmunidad específica frente al VIH, iniciando el tratamiento y controlando la replicación viral desde las primeras semanas de vida, la respuesta citotóxica VIH-específica de los CD8+ se conserva (Spiegel 2000). En cuanto a la respuesta proliferativa de los CD4+ frente al VIH, ésta se correlaciona inversamente con la CV, y los niños mayores de 5 años muestran una mayor capacidad para reconstituirla una vez iniciada la TARGA (Weinberg 2003, Feeney 2003), siendo dicha respuesta más frecuente e intensa cuando se compara con los adultos. Por ello, los niños serían buenos candidatos a la terapia basada en el refuerzo de la inmunidad específica frente al VIH.

- Toxicidad del tratamiento antirretroviral

Los potenciales beneficios inmunológicos y virológicos de TARGA deben ponerse en la balanza en relación a los problemas de toxicidad y adherencia que conlleva, y que pueden generar mutaciones asociadas a resistencia a los distintos antirretrovirales. Estas limitaciones y dificultades asociadas al TAR están motivando estrategias terapéuticas más conservadoras.

Respecto a la toxicidad, la TARGA puede producir en los niños las mismas alteraciones metabólicas descritas en los adultos: redistribución de la grasa corporal o síndrome de lipodistrofia, dislipemias, resistencia periférica a la insulina, defecto de mineralización ósea, hiperlactatemia y acidosis láctica (Jaquet 2000, Mora 2001, Noguera 2003, Viganò 2003).

Es difícil atribuir a cada fármaco cada una de las implicaciones en las alteraciones metabólicas, pero podría resumirse de la siguiente manera:

1) ITIAN: principales responsables de la atrofia grasa periférica y de la toxicidad mitocondrial. La acidosis láctica y toxicidad mitocondrial son poco frecuentes pero existen casos muy graves documentados en niños que obligan a retirar la medicación (Noguera 2003, Barret 2003). En la actualidad la tendencia es no hacer determinaciones de ácido láctico de rutina.

2) ITINN: responsables del aumento de lípidos, sobre todo colesterol, aunque en menor grado que los IP.

3) IP: principales responsables de la hipertrofia grasa central, aumento de colesterol, LDL y triglicéridos, y de la resistencia periférica a la insulina. Los IP producen un mayor aumento de los lípidos que los ITINN y estos más que los ITIAN (Mc Comsey 2004)

4) IP + ITIAN: acción sinérgica en el desarrollo del síndrome de lipodistrofia.

- Cumplimiento del tratamiento antirretroviral

El TAR supone un reto para el niño, su familia y los médicos que los atienden. La administración de varios fármacos más de una vez al día es a menudo problemática. La eficacia del TAR depende no sólo de las diferencias individuales en la absorción y el metabolismo de las medicaciones, sino sobre todo de su correcto cumplimiento. Si este no se realiza de forma estricta, no se va a contener la replicación viral y, por tanto, aumentan de manera considerable las posibilidades de aparición de cepas resistentes (**Fig. I.13 y I.14**), que no sólo anulan la eficacia de la medicación prescrita, sino que además pueden inutilizar otras alternativas terapéuticas por la existencia de resistencias cruzadas.

En la infección por VIH se requiere un cumplimiento terapéutico superior al 95% (García de Olalla 2002), para conseguir un adecuado y prolongado control de la replicación viral. En niños se ha documentado que la mala adherencia es muy común, siendo la causa más frecuente de fracaso virológico (Watson 1999). En algunas series posteriores, el cumplimiento superior al 95% no se alcanza más que en el 80% de los niños encuestados (Martin 2007, Gibb 2003 (b)), lo que es insuficiente.

Figura I.13. Relación entre cumplimiento terapéutico y éxito virológico (ARN-VIH <400 copias/ml) en adultos.

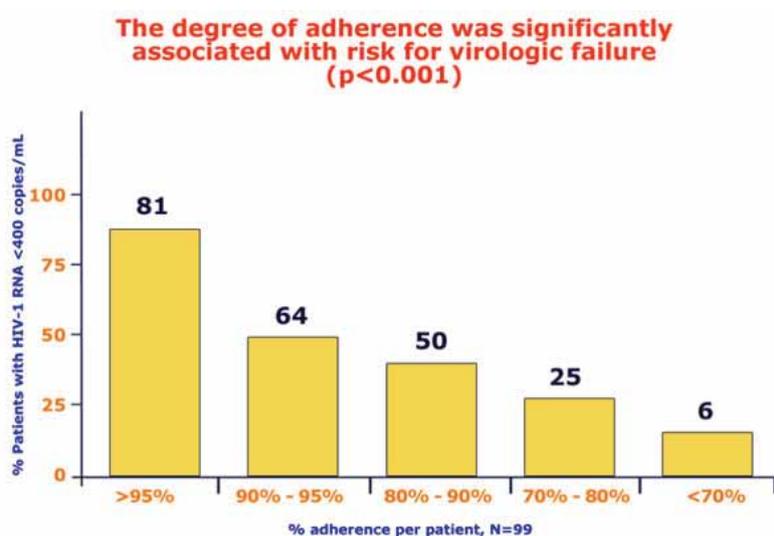
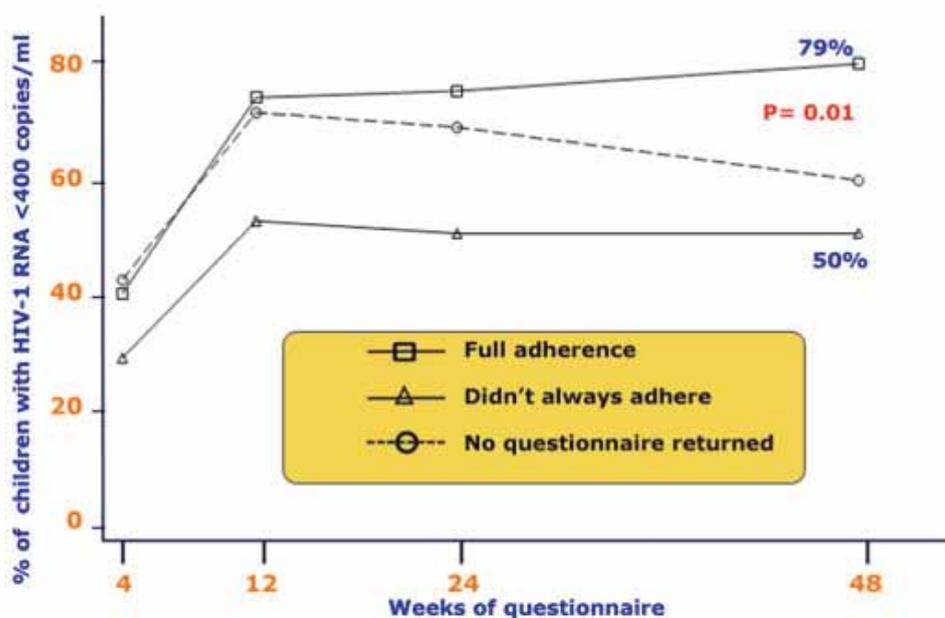


Figura I.14. Relación entre cumplimiento terapéutico y éxito virológico (VIH RNA<400 copias/ml) en niños. (Gibb 2003 (b)).

Based on 108 children returning at least one questionnaire



8. Interrupción programada del tratamiento antirretroviral.

La interrupción programada de TARGA, atendiendo a la toxicidad y efectos secundarios que asocia, constituye una de las estrategias terapéuticas más controvertidas de los últimos años. No obstante, debe tenerse en cuenta que los tratamientos combinados actuales no permiten erradicar el VIH tal y como se pensó inicialmente.

Estudios recientes llevados a cabo en adultos han analizado la interrupción programada del tratamiento antirretroviral (IPT) en diferentes contextos clínicos y con objetivos también diferentes. Inicialmente fue evaluada la estrategia de **IPT ciclada por tiempo**, en la que el paciente permanece un periodo de duración predeterminada sin tratamiento, con la hipótesis de que las interrupciones cíclicas del TAR provocarían un repunte de la carga viral, y con ello una estimulación de la respuesta inmune específica frente al VIH. Se trataría pues de una forma de “autoinmunización terapéutica” siendo considerada como una terapia de base inmune para controlar la replicación viral una vez la TARGA se suspende (*García 2001*). Dicha estrategia ha sido analizada en infección aguda (*Rosemberg 2000*) y en infección crónica por VIH con carga viral indetectable (*Lisziewicz 2002, Fagard 2003*). No obstante, la ausencia de control de la replicación viral a largo plazo es la norma, particularmente en pacientes con infección crónica por el VIH en los que la respuesta inmune específica frente al virus es sólo transitoria (*Ruiz 2000, Moltó 2004, Lisziewicz 2002*). La estrategia ciclada por tiempo también ha sido evaluada en pacientes en fracaso terapéutico o portadores de cepas multi-resistentes con la hipótesis de que con la IPT, la población viral rápidamente viraría de la variante multi-resistente a la forma salvaje (*wild-type*), que sería de nuevo sensible a TARGA. Sin embargo, los estudios han demostrado que aunque el virus salvaje reemerja tras la IPT, la respuesta virológica al reiniciar la TARGA es sólo transitoria por la reaparición de los patrones de resistencia basales (*Delaugere 2005, Katlama 2004, Pai 2006*).

Más recientemente está siendo valorada la estrategia de **IPT guiada por la cifra de linfocitos CD4+** en pacientes con infección crónica y CV indetectable, como una forma de reducir la exposición a fármacos antirretrovirales, y en consecuencia, su toxicidad y su coste. En dicha estrategia, la interrupción se produce durante un tiempo variable, y los pacientes sólo reinician el tratamiento antirretroviral si el recuento de CD4+ disminuye a las cifras pre-establecidas. El trabajo más relevante realizado en esta línea ha sido el SMART Trial (*SMART, El-Sadr. 2006*), que de forma

randomizada asignó a 5400 adultos con infección crónica por VIH a recibir TARGA de forma continua o episódica en base a la evolución del número de linfocitos CD4+: la TARGA se iniciaba cuando la cifra de CD4+ era inferior a 250 células/mm³ y se suspendía cuando superaba las 350 células/mm³, independientemente del *status* inmune previo al inicio del estudio. El ensayo tuvo que ser suspendido prematuramente, al detectarse en un análisis intermedio, un riesgo aumentado de infecciones oportunistas o muerte por cualquier causa (incremento del riesgo en 2.6) entre los pacientes randomizados a TARGA intermitente.

A pesar de estos resultados desalentadores, algunos expertos aún piensan que las IPT pueden representar una estrategia terapéutica útil en algunas circunstancias, como en la infección aguda por VIH, o en la profilaxis de la transmisión vertical del VIH (*Currier 2006*).

En la edad pediátrica las estrategias de IPT adquieren especial relevancia si tomamos en consideración las siguientes premisas:

1) el TAR está recomendado en la mayoría de niños infectados, y en todos los niños diagnosticados antes de los 12 meses, y una vez iniciado debería mantenerse de por vida.

2) el riesgo de progresión de la enfermedad en niños disminuye en pacientes no tratados a partir de los 3 años de edad.

3) el cumplimiento correcto es especialmente difícil en el paciente pediátrico.

4) el tiempo de exposición a los ARV se asocia a un incremento de los efectos secundarios o toxicidad de los mismos; se conoce poco sobre la toxicidad a largo plazo de un tratamiento iniciado en etapas tan precoces de la vida, y en pacientes que están en fase de crecimiento y desarrollo, aunque ya existen indicios de que puedan existir efectos adversos a nivel cardiovascular (*Charakida 2005, McComsey 2007*).

Los beneficios de las estrategias de IPT no están aún bien establecidos, salvo en aquellos pacientes en los que la decisión ha venido determinada por la toxicidad o efectos secundarios de los antirretrovirales. La IPT suele contar con la aprobación de los pacientes y sus familias, que ven mejorada su calidad de vida durante los

descansos de la medicación. Sin embargo, la controversia viene determinada por el riesgo de inmunosupresión, de progresión de la enfermedad (síndrome retroviral agudo, infecciones oportunistas, neoplasias...) y, en ocasiones, de emergencia de cepas de virus resistentes. En cualquier caso, no podemos simplemente extrapolar a la edad pediátrica los resultados obtenidos de los estudios realizados en población adulta, dado que la situación clínica e inmunológica de los adultos al inicio de TARGA suele ser diferente a la del niño. Además, el niño tiene un potencial de RI mayor respecto al adulto, atribuible a la funcionalidad aún presente del timo.

La experiencia en IPT en pacientes pediátricos con infección por VIH es muy escasa y anecdótica (*Chakraborty 2003, Monpoux 2004, Ramos 2005 (b); Gibb 2004; Saitoh 2008*) y hasta la fecha no han sido publicados estudios controlados.

Capítulo II

Hipótesis de trabajo y objetivos

A/ Hipótesis de trabajo

Desde la identificación de los primeros pacientes con SIDA, la rápida expansión de la infección VIH ha determinado que sea considerada una de las mayores epidemias de la humanidad, cuyo control dista mucho de ser una realidad. El VIH condiciona un grave trastorno de la inmunidad, que se manifiesta clínicamente por infecciones graves y/o recurrentes y una mayor predisposición para el desarrollo de algunas neoplasias. En el niño, además, parte de las manifestaciones clínicas son resultado del efecto citopático directo del virus a nivel de distintos órganos y tejidos. Casi la totalidad de los pacientes pediátricos con infección VIH se han infectado por transmisión vertical, y ello determina que el VIH incida en una etapa de pleno desarrollo y diferenciación celular. En el niño, además, parte de las manifestaciones clínicas son resultado del efecto citopático directo del virus a nivel de distintos órganos y tejidos. La progresión de la enfermedad, en ausencia de tratamiento, es más rápida en ellos, siendo la edad media de progresión a SIDA de 4 a 6 años, en contraposición a los 9,8-15 años post-infección de los adultos. El riesgo de desarrollar SIDA es especialmente alto durante el primer año de vida (10-30 %) y disminuye a partir de entonces al 2-3 % anual. La mayor morbimortalidad de la infección VIH por transmisión vertical probablemente se deba a la inmadurez del sistema inmunológico, que durante las primeras semanas de vida es incapaz de controlar la elevada replicación viral, así como la presencia de un mayor número de células susceptibles de ser infectadas. Hasta la actualidad no disponemos de ningún marcador que nos permita discernir entre aquellos pacientes pediátricos que presentarán formas graves de enfermedad, de aquellos con manifestaciones leves de la misma. Ello ha determinado que la mayoría de Guías recomienden iniciar tratamiento antirretroviral en el momento del diagnóstico, a las pocas semanas de vida, independientemente de la situación clínica o inmunológica del paciente.

El tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha cambiado la historia natural de la infección VIH. Sin embargo, los fármacos antirretrovirales de que disponemos actualmente no permiten erradicar la infección y deben mantenerse de por vida. El TARGA combina un mínimo de tres fármacos, que deben administrarse generalmente dos veces al día, con formulaciones que son poco adecuadas para niños (cápsulas, comprimidos o soluciones orales con mal sabor) y precisan de un estricto ajuste de dosis debido a las variaciones de la farmacocinética según la edad.

Además, se requiere de un cumplimiento mantenido superior al 90% para conseguir la máxima eficacia y evitar la aparición de resistencias. La elevada complejidad del tratamiento antirretroviral en la edad pediátrica determina que alrededor de la mitad de los pacientes pediátricos que lo inician fracasen y requieran una nueva combinación. Por otro lado la exposición crónica a antirretrovirales no está exenta de toxicidad, ni de efectos secundarios a corto, medio y largo plazo, que pueden interferir en el desarrollo, maduración y futura salud de los niños infectados. Todo ello hace necesario que se investiguen, en ausencia de vacunas eficaces, nuevas estrategias de tratamiento.

La interrupción programada del TARGA (IPT), tiene como fundamento que la respuesta inmune específica frente al VIH que se estimula tras el rebrote de la viremia después de la supresión farmacológica y recuperación del sistema inmune, sea capaz de controlar la replicación del VIH sin necesidad de fármacos antirretrovirales. En el año 2001, tras resultados muy esperanzadores en que algunos pacientes con infección aguda que habían iniciado TARGA controlaron la replicación del VIH tras interrumpir voluntariamente el tratamiento, se planteó ésta como una posible estrategia de tratamiento con el fin de reducir la exposición a antirretrovirales y en especial su toxicidad asociada. La IPT guiada por la cifra de linfocitos CD4+ ha sido evaluada principalmente en dos contextos clínicos: 1) en pacientes con infección crónica y carga viral indetectable, como una forma de reducir la exposición a fármacos antirretrovirales, y en consecuencia, su toxicidad y coste; 2) en pacientes con infección aguda, con el fin de modificar el curso natural de la infección VIH. En la IPT guiada por la cifra de linfocitos CD4+, la suspensión del tratamiento antirretroviral se produce durante un tiempo variable, de acuerdo al recuento de linfocitos CD4+: habitualmente, el paciente reinicia TARGA cuando evoluciona a una situación de inmunodepresión moderada. Dicha estrategia permite unas *vacaciones* de TARGA que mejoran la calidad de vida de los pacientes, al minimizar los problemas asociados al tratamiento antirretroviral.

Los beneficios de la IPT no están aún bien establecidos, salvo en aquellos pacientes en los que la decisión ha venido determinada por la toxicidad asociada al uso de los antirretrovirales. La controversia de las IPT como opción terapéutica viene determinada por el riesgo de reactivación de la enfermedad (síndrome retroviral agudo, infecciones oportunistas, neoplasias...), de inmunosupresión, y la probable emergencia de cepas de virus resistentes a los antirretrovirales.

En la edad pediátrica, la IPT adquiere especial interés por las mayores dificultades para conseguir una adherencia adecuada y mantenida al TARGA, que supone un riesgo aumentado de resistencias farmacológicas, y su potencial toxicidad en un organismo aún en desarrollo. La experiencia con IPT en pacientes pediátricos con infección por VIH es muy escasa y hasta la fecha no han sido publicados resultados de estudios controlados. Hemos de resaltar que casi toda la evidencia científica disponible procede de estudios realizados en población adulta, y no podemos olvidar que los niños infectados por el VIH tienen una historia natural de la enfermedad, respuesta inmunológica y evolución de la carga viral diferentes a las del adulto. Además, los niños, tienen un mayor potencial de reconstitución inmunológica, atribuible a la funcionalidad de un timo aún no involucionado, que pudiera contribuir a una mayor recuperación inmune tras el inicio de TARGA y a una mayor respuesta inmune específica frente al VIH al interrumpir dicho tratamiento.

A partir de los datos mencionados previamente, se establece la siguiente hipótesis de trabajo:

En el paciente pediátrico infectado por VIH por transmisión vertical, y tras respuestas clínica e inmune óptimas y prolongadas a TARGA, la interrupción única y programada de tratamiento guiada por la cifra de linfocitos CD4+ y con intención de reducir la exposición a fármacos antirretrovirales, podría representar una opción terapéutica segura desde el punto de vista clínico.

B/ Objetivos

Los objetivos son comunes para ambos grupos en estudio: grupo A, pacientes tratados durante el periodo de infección aguda y grupo B, pacientes tratados durante la infección crónica.

1) CLÍNICOS

Describir la morbilidad y mortalidad que se deriva de la interrupción programada del tratamiento antirretroviral (IPT).

2) VIROLÓGICOS

2a) Estudiar la dinámica de replicación del VIH tras la IPT, mediante la carga viral plasmática (ARN-VIH).

2b) Analizar tras la IPT la posible emergencia de mutaciones en el gen de la transcriptasa inversa y la proteasa asociadas a resistencia a los fármacos antirretrovirales.

3) INMUNOLÓGICOS

3a) Analizar la evolución de los linfocitos CD4+ tras la IPT.

3b) Estudiar las variables inmunológicas que se asocian a una inmunodepresión más rápida tras la IPT.

3c) Describir la evolución de las subpoblaciones linfocitarias CD4RO+ (memoria) y CD4RA+ (*naive*) tras la IPT.

3d) Analizar la evolución de la respuesta inmune específica de los linfocitos CD4+ (mediante producción de INF γ) frente al VIH tras la IPT.

Capítulo III

Pacientes y métodos

1. Diseño del estudio

Se trata de una serie de casos prospectiva, con grupo de comparación, de niños y adolescentes que forman parte de la cohorte de pacientes pediátricos con infección por el VIH en seguimiento en el Hospital Sant Joan de Déu desde principios de los años 90. El objetivo principal del estudio es evaluar la seguridad de la IPT, entendida como una forma de reducir el tiempo de exposición a los fármacos antirretrovirales, en términos de evolución clínica, inmunológica y virológica.

En el estudio se distinguen dos series de pacientes, que se diferencian según el momento evolutivo de la infección VIH en el que iniciaron el tratamiento antirretroviral. Por un lado, aquellos que iniciaron TARGA en las primeras 12 semanas de vida, durante la infección aguda (grupo de infección aguda o grupo A, n=6); por el otro, aquellos que la iniciaron más allá de las 12 semanas de vida, en la fase crónica de la infección VIH en el niño (grupo de infección crónica o grupo B, n=12). Para el grupo B, se ha reunido asimismo un grupo de comparación (grupo C, n=13) de pacientes pediátricos que cumplen estrictamente los mismos criterios de inclusión, pero que no han interrumpido el tratamiento antirretroviral.

Los criterios de inclusión para valorar la entrada en el protocolo de IPT en los grupos A y B se describen en la **Tabla III.3** y **Tabla III.4**, respectivamente. Los criterios de exclusión, comunes a ambos grupos, se describen en la **Tabla III.5**.

Tabla III.3. *Criterios de inclusión para los pacientes en el grupo de infección aguda (grupo A)*

- a. Pacientes pediátricos con infección VIH vertical confirmada
- b. Inicio del tratamiento con TARGA tan pronto como se confirma el diagnóstico de infección por VIH y, en cualquier caso, antes de las 12 semanas de vida
- c. Ausencia de cualquier condición clínica, en fase activa, relacionada con la infección por VIH, al menos durante los últimos dos años
- d. Recuento y porcentaje de linfocitos CD4+ mantenido en los últimos dos años en la categoría inmunológica 1 de los CDC (≥ 350 células/mm³ en mayores de 13 años, o $\geq 25\%$ para niños de 12 años o menos)
- e. Autorización por parte de sus padres o tutores legales

Tabla III.4. Criterios de inclusión para los pacientes en el grupo de infección crónica (grupo B)

- a. Pacientes pediátricos (<18 años) con infección VIH vertical confirmada
- b. En tratamiento con TARGA de primera línea, o primera línea en simplificación, iniciado más allá de las 12 semanas de vida
- c. Autorización por parte de sus padres o tutores legales

Y, al menos durante los últimos dos años:

- d. Ausencia de cualquier condición clínica, en fase activa, relacionada con la infección por VIH
- e. Carga viral plasmática (ARN-VIH) inferior a 50 copias/ml
- f. Recuento y porcentaje de linfocitos CD4+ mantenido en la categoría inmunológica 1 de los CDC (≥ 350 células/mm³ en mayores de 13 años, o $\geq 25\%$ para niños de 12 años o menos)

Tabla III.5. Criterios de exclusión, válidos para ambos grupos en estudio (A y B)

- a. Pacientes infectados por el VIH y afectados de inmunodeficiencias congénitas u otras coinfecciones que puedan afectar a su sistema inmunológico (por ejemplo, la citomegalia congénita)
- b. Pacientes infectados por el VIH que deban seguir, por otros problemas clínicos, tratamientos crónicos potencialmente inmunosupresores (por ejemplo, corticoesteroides o interferón)
- c. Adolescentes embarazadas

Cuando se plantea la posibilidad de una IPT, los pacientes y sus padres o tutores legales son debidamente informados de las ventajas y los riesgos de la misma, y se establece un protocolo de seguimiento y unos criterios estrictos de reinicio de la TARGA (**Tabla III.6**). Asimismo, es preceptiva la obtención de un Consentimiento Informado previamente a la inclusión en el estudio, que ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital Sant Joan de Déu.

Tabla III.6. Criterios que determinan la necesidad de reiniciar TARGA, válidos para ambos grupos en estudio (A y B)

- a. Ocurrencia de cualquier evento clínico relacionado con la infección VIH, incluyendo el síndrome retroviral agudo
- b. Descenso de la cifra de linfocitos CD4+ (por debajo de 350 células/mm³ en mayores de 13 años, o menos del 17% para niños de 12 años o menos), en dos determinaciones consecutivas separadas por un mes
- c. Voluntad del paciente, o de sus padres o tutores legales

La IPT se realizó de forma simultánea para todos los fármacos antirretrovirales que componen la TARGA, excepto en aquellos pacientes en tratamiento con un régimen que incluía inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (nevirapina o efavirenz), en los que dicho fármaco se interrumpió 14 días antes de interrumpir el resto con la intención de evitar una situación de monoterapia funcional que facilite la aparición de mutaciones virales asociadas a resistencia a esta familia de antirretrovirales (Ruiz 2007).

Todos los pacientes, incluidos en los grupos A, B y C, siguieron una vigilancia clínica y analítica estricta tras la IPT, consistente en controles mensuales durante los primeros 6 meses, y cada 2-3 meses posteriormente.

2. Variables del estudio

2.1. Variables epidemiológicas: filiación, sexo, fecha de nacimiento.

2.2. Variables en el momento del diagnóstico de la infección por VIH: edad, estadio clínico de los CDC (**Apéndice 1**), recuento y porcentaje de linfocitos CD4+, y carga viral plasmática (ARN-VIH).

2.3. Variables al inicio de TARGA: edad, combinación terapéutica, estadio clínico de los CDC (**Apéndice 1**), recuento y porcentaje de linfocitos CD4+, y carga viral plasmática (ARN-VIH). Se recogen los valores más bajos o *nadir* de linfocitos CD4+ (recuento y porcentaje), y el valor más alto de carga viral (ARN-VIH), hasta la fecha; y también los tratamientos ARV recibidos previamente al inicio de TARGA, ya sea como terapias sub-óptimas con análogos de nucleósidos para el tratamiento de la infección durante la primera mitad de la década de los 90 (pacientes del grupo B), o como profilaxis neonatal de la transmisión vertical del VIH (pacientes del grupo A, sobretodo).

2.4. Variables en el momento de la IPT: edad, motivo principal para plantear la IPT, tiempo en tratamiento TARGA, recuento y porcentaje de linfocitos CD4+, y carga viral plasmática (ARN-VIH). Se recogen también los cambios ocurridos en los regímenes TARGA: número de regímenes, fármacos utilizados y la respuesta virológica a los mismos en los pacientes del grupo A; y pautas de simplificación, si las hubiere, y tiempo con carga viral indetectable en los pacientes del grupo B.

2.5. Variables a lo largo de la IPT: tiempo en IPT, evolución de los linfocitos CD4+ (recuento y porcentaje), evolución de la carga viral plasmática (ARN-VIH), y eventos clínicos acaecidos, incluyendo aquellos compatibles con síndrome retroviral agudo, y aquellos que suceden más allá de los primeros dos meses tras la IPT, precisen o no de ingreso hospitalario.

2.6. Variables en aquellos pacientes que reinician TARGA: edad, motivo que lleva a reiniciar TARGA, recuento y porcentaje de linfocitos CD4+ y carga viral (ARN-VIH) plasmática. Se recoge asimismo el nuevo régimen TARGA iniciado, y la evolución clínica, inmunológica y virológica que se observa tras reinstaurar el tratamiento ARV.

Las principales variables inmunológicas (recuento y porcentaje de linfocitos CD4+, por técnica de citometría de flujo, FACSCalibur; BD Biosciences, San Jose, EEUU) y virológicas (carga viral plasmática, ARN-VIH) forman parte esencial del seguimiento de la infección VIH en el niño y se realizaron, en este estudio, de acuerdo al protocolo en el momento de la inclusión y, al menos, cada 3 meses.

Otras variables inmunológicas. Pretenden analizar, con mayor profundidad, la reconstitución inmunológica que se produce al iniciar TARGA y los cambios que se derivan de la IPT. Su complejidad y la necesidad de extraer un volumen superior al habitual de sangre del paciente, hacen que sea inviable su determinación periódica. Para este estudio se obtuvieron para la mayoría de pacientes, en un mínimo de dos ocasiones, durante el periodo de TARGA y tras la IPT:

- subpoblaciones linfocitarias de linfocitos CD4+ y CD8+, definidas por: CD45RO+ (linfocitos de memoria) y CD45RA+ (células *naives* o no estimuladas por antígenos).
- respuesta inmune específica de los linfocitos CD4+ frente al VIH y otros antígenos (*Cytomegalovirus*, tuberculina, *Candida* y toxoide tetánico) mediante la producción de IFN- γ .

Otras variables virológicas. Con el fin de detectar la emergencia de mutaciones virales asociadas a resistencia a fármacos antirretrovirales tras la IPT, se realizó un estudio del gen de la transcriptasa inversa y de la proteasa en los primeros 15 a 30 días tras la IPT. La realización precoz de dicho estudio genotípico permite identificar la posible presencia de subpoblaciones del VIH con mutaciones asociadas a resistencia a los ARV antes de que la población salvaje o *wild-type*, con una mayor capacidad de replicación, se desarrolle e impida la detección de las primeras. Este

estudio genotípico se comparó con el genotipo viral basal (antes de iniciar la TARGA), en los pacientes en los que se disponía del mismo.

3. Descripción de las técnicas de laboratorio más relevantes

El análisis de las distintas poblaciones y subpoblaciones linfocitarias se realizó en sangre total o en células mononucleares de sangre periférica (CMSP, aisladas mediante un gradiente de Ficoll-Hypaque) por técnica de citometría de flujo (FACSCalibur; Becton-Dickinson Biosciences, San Jose, EEUU) en la laboratorio de Hematología del Hospital Sant Joan de Déu, a cargo de la Dra. Esperanza Tuset.

La técnica consiste en incubar las células con cantidades saturantes de anticuerpos monoclonales específicos combinados de la siguiente forma: control negativo γ 1-FITC + control negativo γ 2a-PE, CD8-PE+CD4-FITC+CD3-Biotina [+Strep-PerCP], CD45-FITC+CD14-PE, CD3-Biotina+CD16-PE+CD56-PE [+Strep-PerCP], CD45RA-FITC+ CD45R0-PE+CD11b [+Strep-PerCP], CD25-PE+HLA-DR-PerCP+CTLA-4-Biotina [+Strep-FITC], CD8-PE+CD4-FITC+CD28-Biotina [+Strep-PerCP]. Después de 30 minutos de incubación, las células se analizarán en el FACScan, utilizando el programa informático Cell Quest®. FACScan está calibrado para la inclusión de los controles negativos centrados inicialmente en una escala logarítmica. Esta configuración para la adquisición de los parámetros en el FACScan está comprobada y se mantendrá estable para asegurar la consistencia en la comparación de los resultados. Cuando se utilicen anticuerpos monoclonales biotinilados, se realizará una segunda incubación con Streptavidina-FITC o PerCP. Se utilizará un mínimo de 1×10^4 células para los análisis fenotípicos.

El estudio de la inmunidad específica frente al VIH se realizó en el laboratorio de Retrovirología (IRSI Caixa) del Hospital Germans Trias i Pujol, a cargo de las biólogas Dra Lúcia Ruiz y Rocío Bellido.

Las células T CD4+ Th1 antígeno-específicas producen $INF\gamma$ en presencia de su estímulo específico. Dada la baja concentración de citocinas que se obtiene al estimular las células, una manera fácil de cuantificar dicha respuesta es a través de la técnica de ELISPOT. Dicha técnica se aplica sobre CMSP en fresco.

Los ensayos ELISPOT se realizan en placas Multiscreen-IP de 96 pocillos (Millipore, Belford, EEUU). Los pocillos están preincubados con 100 μ l de anti-IFN γ (Diacclone, Besançon, Francia). Después de dos horas de incubación se lavan con un tampón, (Phosphate Buffered Saline (PBS) 1X, Roche, Indianápolis, USA) y se les añade el medio RPMI 1640 (Invitrogen, Pasley, Scotland, UK) al 1% de piruvato sódico, 1% de aminoácidos no esenciales, 2% de antibióticos (penicilina y estreptomina) y al 10% Fetal Calf Serum (FCS) (Invitrogen, Pasley, Scotland, UK) para bloquear la membrana y evitar así uniones no específicas. Se vuelve a incubar a 37° C de CO₂ durante 30 minutos como mínimo. En cada pocillo se añaden 100 μ l de dilución con el antígeno específico: *Candida albicans* (Sanofi Diagnostic Pasteur, París, Francia) dilución 1:1000 en placa, *Citomegalovirus* (Biowhittaker, Maryland, EEUU) dilución 1:800 en placa, tuberculina (Statens Serum Institut, Copenhague, Dinamarca) a concentración de 3 μ g/mL a dilución 1:80 en placa, toxoide tetánico (Sanofi Diagnostic Pasteur, París, Francia) a concentración de 1 Lf/mL a dilución 1:20 en placa, y antígeno p24 (Protein Science, Meriden, USA) a concentración de 2,5 μ g/mL a dilución 1:40. Incluimos un control negativo con medio y un control positivo añadiendo fitohemaglutinina (PHA) (Sigma, St. Louis, MO, USA) a concentración de 5 μ g/mL, dilución en placa 1:500. Añadimos a cada pocillo 100 μ l de CMSP a una concentración de 1×10^6 células/mL en fresco. Las placas se dejan incubar durante 48 horas a 37° C de CO₂. Después se lavan con PBS1X y PBS-Tween 20 (al 0.05%) (Sigma, St. Louis, MO, USA) y se incuban de 4-6 horas con anti-IFN γ biotinilado (Diacclone, Besançon, Francia). Se lava con PBS 1X y se le añade fosfatasa alcalina (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, England, UK) al 1:1000 durante una hora. Finalmente, se lavan y se añade Nitro-Bleu Tetrazolium Chloride (NBT) 4 y Bromo-4-Chloro-3-Indolyl Phosphate (BCIP) 5 (Sigma, St. Louis, MO, USA) lo que permite ver los puntos claramente visibles. Se para la reacción con agua. Se realiza por triplicado. Se cuantifica en la lupa. Los resultados se expresan en SFC/10⁶ células. La media de los valores de cada estímulo antigénico se considera positiva si se visualizan más de 10 puntos, es decir más de 50 SFC/10⁶ células.

Los estudios virológicos (carga viral ARN-VIH y análisis genotípico) se llevaron a cabo en su totalidad en el laboratorio de Microbiología del Hospital Sant Joan de Déu, a cargo de la Dra. Carmen Muñoz-Almagro.

La cuantificación de la carga viral plasmática (ARN-VIH) se determina por transcripción inversa del ARN viral a ADN complementario y posterior amplificación de

una secuencia del gen *gag* por reacción en cadena de la polimerasa (Cobas Amplicor VIH Monitor versión 1.5, Roche Molecular Systems, Suiza; límite de 50 copias/ml) (periodo 1995-2005) y EasyQ, Laboratorios Biomerieux; límite 250 UI/ml (2006-2007) . Se obtiene el número de copias de ARN viral por ml de plasma, que puede expresarse en valores absolutos (copias/ml o UI/ml) o en escala logarítmica (\log_{10}).

Las pruebas de resistencia del VIH se realizaron mediante ensayos genotípicos, que detectan mutaciones en el genoma del virus que confieren mayor o menor grado de resistencias a los ARV. Se realizan aplicando técnicas de amplificación molecular siendo necesario una CV mínima de 1000 copias/ml. El análisis del genotipo viral de las muestras recogidas al final de los años 90 (pacientes *naive*, o en mono o biterapia con análogos de nucleósidos) se realizó mediante el HIV-1 Reverse Transcriptase Line Probe Assay (LiPA, Innogenetics, Alpharetta, EEUU). Dicho ensayo permite detectar mutaciones en los codones 41, 69, 70, 74, 184 y 215 del gen de la transcriptasa inversa. Para las muestras sanguíneas recogidas tras la IPT, el análisis genotípico se realizó por técnica de secuenciación de los genes de la transcriptasa inversa y de la proteasa empleando el equipo TruGene HIV-1 genotyping assay (Bayer HealthCare, Tarrytown, EEUU). Con este sistema, la secuencia obtenida se compara mediante un programa informático con una secuencia consenso del virus *wild-type* (sin mutar). La interpretación de las mutaciones encontradas se realiza con el algoritmo computerizado suministrado por el fabricante siguiendo las recomendaciones internacionales de un grupo de expertos. Este algoritmo es actualizado periódicamente incorporando los datos relevantes presentados en congresos científicos o publicados en revistas de prestigio.

4. Método estadístico

Las variables cualitativas se presentan resumidas como porcentajes, mientras que las variables cuantitativas se describen con la mediana como medida de tendencia central, y con el rango, como medida de dispersión.

Al tratarse de grupos pequeños de pacientes, se han utilizado pruebas no paramétricas para los análisis estadísticos: para la comparación de las variables cuantitativas se utiliza el test de Mann-Whitney. El análisis de las diferencias de

proporciones se lleva a cabo mediante el test asintótico de χ^2 . Se emplean otras pruebas estadísticas no paramétricas según sea apropiado.

Para estimar la frecuencia de eventos clínicos ocurridos, se calcula la densidad de incidencia.

Los datos obtenidos se han registrado en una base de datos creada en Microsoft Office 2000 Excel y se han analizado con el programa estadístico SPSS versión 11.0. La significación estadística se ha establecido con valores de $p \leq 0,05$.

Capítulo IV

Resultados

A/ INTERRUPCIÓN PROGRAMADA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES TRATADOS EN INFECCIÓN AGUDA

Desde 1998, se incluyeron en el grupo A a un total de 6 pacientes (4 niñas) con infección por VIH de transmisión vertical, cuya confirmación diagnóstica e inicio de TARGA se produjeron en la fase aguda de la infección, es decir, en las primeras 12 semanas de vida.

Estos 6 pacientes constituyen un grupo excepcional por los motivos siguientes:

- La implementación de las medidas de prevención de la transmisión madre-hijo de la infección VIH (en 1994, el uso de zidovudina durante el embarazo y el parto en la madre, y en el periodo neonatal en el niño y, más tarde, el uso de TARGA durante el embarazo; en 1999, la indicación de cesárea electiva como vía de parto de elección en la mayoría de gestantes infectadas por el VIH) había conseguido reducir hasta prácticamente desaparecer los nuevos casos de infección VIH por transmisión vertical en los países desarrollados, de tal forma que en España, por ejemplo, se producían sólo alrededor de 10 nuevas infecciones por año.
- De acuerdo con la evidencia científica del momento (*Luzuriaga 1997, CDC Guidelines Pediatric HIV 1998*), la TARGA se instauró en los 6 pacientes tan pronto se hubo confirmado el diagnóstico de la infección por VIH y siempre durante el periodo de infección aguda (primeras 12 semanas de vida), con el objetivo primordial de reducir la progresión de la enfermedad a nivel clínico e inmunológico, y a pesar de que todos los casos se encontraban asintomáticos y con porcentajes normales de linfocitos CD4+.

Datos perinatológicos

Los 6 pacientes del grupo A (**Tabla IV.7**) nacieron entre 1998 y 2002 en Barcelona. En los pacientes 1 y 2, la infección materna por VIH se detectó inmediatamente tras el parto, al realizarse la serología para VIH establecida por protocolo desde el año 1994-1995. Ambos embarazos no habían sido controlados. En el paciente 3, el diagnóstico de infección materna por VIH se confirmó a las 33 semanas de gestación, tras realizarse estudios seriados de serología para VIH en cada trimestre por conductas de riesgo (relaciones sexuales con pareja infectada por VIH). La transmisión madre-hijo de la infección en estos primeros 3 casos puede atribuirse al no control de la replicación viral (ARN-VIH > 1000 copias/ml) en el momento de un parto vaginal, eutócico o instrumentado. En el paciente 3, además, se constató una inmunodepresión materna grave (dos determinaciones de linfocitos CD4+ preparto de 183 y 93 células/mm³).

En los pacientes 4, 5 y 6, las madres conocían su condición de infectadas por VIH ya antes de quedar embarazadas. La madre del paciente 4 fue hospitalizada por amenaza de parto prematuro en las últimas 6 semanas del embarazo (dinámica uterina), prescribiéndose por este motivo y en varias ocasiones una dieta absoluta que le impidió recibir su TARGA. Por ello, la causa probable de la transmisión vertical del VIH fue un repunte de la viremia plasmática previo al parto causado por la interrupción del TARGA. En la paciente 5, coinciden varios factores de riesgo: la viremia materna detectable en el momento del parto (escaso cumplimiento de la TARGA durante la gestación), la inmunodepresión materna (linfocitos CD4+ de 300 células/mm³ y del 20%) y un parto vaginal. Por último, la madre de la paciente 6 no realizó el tratamiento ARV prescrito llegando al parto eutócico con una viremia plasmática probablemente detectable. En efecto, en controles pre-parto presentaba una CV detectable, pero no disponemos de los datos inmunovirológicos de la paciente durante el embarazo y antes del parto. Cabe destacar también que los pacientes 3 y 5 presentaron durante el parto una rotura de membranas de 4 y 24 horas de duración respectivamente, hecho que se ha relacionado con un riesgo aumentado de infección por VIH para el recién nacido.

Todos los recién nacidos, excepto uno, recibieron zidovudina oral en las primeras 72 horas de vida y durante 6 semanas o hasta la confirmación de la infección VIH, cuando se cambió a TARGA. La paciente 1 no recibió zidovudina neonatal e inició directamente TARGA al diagnóstico de la infección por VIH.

Tabla IV.7. Antecedentes perinatales del grupo A

Paciente	Año nacimiento	Diagnóstico de la infección VIH materna	Profilaxis con ARV	Situación materna preparto			Tipo de parto	Edad gestacional (semanas)	Peso al nacimiento (Kg)	Lactancia materna	ZDV neonatal	PCR-VIH en neonato 24-72h de vida	PCR VIH en neonato 14 días de vida	PCR VIH en neonato 4-8 semanas de vida
				Estadio clínico CDC	ARN-VIH (copias/ml)	CD4 (%)								
1	1998	Postparto	No	A	19.303	47	Vaginal	38	2,740	No	No	neg	pos	pos
2	1999	Postparto	No	A	1.048	29	Vaginal	37	2,650	24h	Sí	neg	neg	pos
3	2002	Tercer trimestre	No	B	150.000	14	Instrumentado	34	2,170	No	Sí	pos	pos	pos
4	1999	Antes del embarazo	3TC+ZDV+NVP irregular → ZDV intraparto	A	<50 (6 semanas antes del parto)	38	Cesárea	37	2,470	No	Sí	pos	pos	pos
5	1998	Antes del embarazo	3TC+ZDV → ZDV intraparto	B	1.250	20	Vaginal	35	2,780	No	Sí	neg	neg	pos
6	1999	Antes del embarazo	No	A	ND	ND	Vaginal	39	3,140	No	Sí	pos	pos	pos

ND, no disponible; neg, negativa; pos, positiva.

La PCR para ADN o ARN fue positiva en las primeras 72 horas de vida en los pacientes 3, 4 y 6, mientras que para el resto de pacientes se positivizó pasados los 14 días de vida. Por ello, se intuyó que la transmisión vertical de la infección por VIH debió producirse en los pacientes 1, 2 y 5 periparto, mientras que en los pacientes 3, 4 y 6 debió ocurrir prenatalmente.

Diagnóstico de la infección VIH

La mediana de edad al diagnóstico de la infección por VIH fue de 1,2 semanas (rango: de 0,4 a 7,6 semanas) (**Tabla IV.8**). En el momento del diagnóstico, ningún paciente presentó síntomas atribuibles a la infección VIH (estadio clínico N de los CDC, **Apéndice 1**). La paciente 3, que nació a las 34 semanas de edad gestacional, presentó una trombocitopenia no sintomática (cifra mínima de plaquetas de $67.000/\text{mm}^3$) autolimitada en 13 días y el paciente 4 fue hospitalizado a la edad de un mes por una bronquiolitis por virus respiratorio sincitial, antes de la implementación de la terapia antirretroviral.

Al diagnóstico de la infección VIH, no se objetivó inmunodepresión en ningún paciente: los valores porcentuales de linfocitos CD4+ superaron el 25% en todos los pacientes (estadio inmunológico 1 de los CDC, **Apéndice 2**), mientras que la carga viral plasmática (ARN-VIH) mediana fue de 6,1 \log_{10} copias/ml. Asimismo, se realizó punción lumbar para la determinación de la viremia en líquido cefalorraquídeo en 3 de los 6 pacientes, siendo detectable en todos los casos. Ningún paciente desarrolló clínica compatible con encefalopatía por el VIH durante el seguimiento.

Al diagnóstico y previo al inicio de TARGA, se realizó en 5 de los 6 pacientes (pacientes 1, 2, 3, 4 y 5) un estudio genotípico basal del VIH para analizar la posible presencia de mutaciones en el gen de la transcriptasa inversa y la proteasa asociadas a resistencia a los ARV. En los 5 pacientes analizados, el genotipo era *wild-type*, es decir sin resistencia alguna (**Tabla IV.8**).

Tabla IV.8. Características clínicas, inmunológicas y virológicas de los pacientes al diagnóstico de la infección VIH

Paciente	Sexo	Edad al diagnóstico (semanas)	Estadio clínico CDC	Linfocitos			Carga viral (ARN-VIH; log ₁₀ copias/ml)		Genotipo basal
				CD4+ (%)	CD4+ (células/mm ³)	CD8+ (%)	Plasmática	En LCR	
1	M	2	N	50	1.200	32	6,5	3.322	WT
2	M	7,6	N	44	336	24	5,6	148	WT
3	M	0,4	N	41	1.599	33	6,5	ND	WT
4	H	0,4	N	41	1.134	35	5,06	2.050	WT
5	H	5,6	N	42	390	37	6,1	ND	WT
6	M	0,4	N	40	1.100	ND	6,5	ND	ND
Mediana		1,2		41,5	2188	32	6,1	2050	

LCR, líquido cefalorraquídeo; M, mujer; H, hombre; ND, no disponible; WT :*wild-type*.

Evolución durante la TARGA

Todos los pacientes iniciaron TARGA tan pronto se hubo establecido el diagnóstico de infección por VIH. La mediana de tiempo desde el diagnóstico a la implementación de TARGA fue de 4,8 semanas (rango: de 2 a 7,6 semanas). Los valores porcentuales y absolutos de linfocitos CD4+, así como la CV, en el momento de implementar TARGA no difieren de los valores al diagnóstico de la infección. Respecto a la combinación terapéutica, los pacientes 1, 3, 4, 5 y 6 recibieron un régimen basado en NVP, y el paciente 2, un régimen basado en NFV (**Tabla IV.9**).

Los pacientes permanecieron un tiempo mediano de 3,67 años en TARGA (rango: de 2,9 a 5,25 años). Tras el inicio de TARGA, el tiempo mediano hasta alcanzar una CV indetectable fue de 9 meses (rango 3-24 meses).

Los pacientes 1, 2 y 3 tuvieron una buena respuesta a la primera combinación de TARGA, de manera que en los primeros 6 meses de tratamiento (3, 3 y 6 meses respectivamente) la replicación del VIH se controló (CV no detectable).

La paciente 6 mantuvo una CV detectable durante los primeros 18 meses de vida a pesar de un supuesto cumplimiento del tratamiento ARV, identificándose en el estudio genotípico (CV de 17.200 copias/ml) las mutaciones T215Y y D67N frente a los análogos de la timidina que confieren resistencia a d4T y ZDV, y las mutaciones K103N, Y181C en el gen de la transcriptasa inversa que confieren resistencia a nevirapina y efavirenz. Éste fue el motivo por el que se cambió la combinación terapéutica de ZDV+ddl+NVP a d4T+3TC+NFV, con un rápido control ulterior de la replicación viral (viremia plasmática indetectable a los 3 meses).

Los pacientes 2, 3 y 6 mantuvieron una viremia plasmática por debajo del límite de detección del método (ARN-VIH <50 copias/ml) durante el resto del seguimiento hasta la interrupción (**Figura IV.15**).

La paciente 1, tras un periodo de 4 años con CV indetectable, fue incluida en un ensayo clínico para una pauta simplificada con fos-amprenavir. Disponemos de un estudio genotípico realizado a las 6 semanas de la suspensión de su terapia ARV para entrar en el ensayo (CV de 135.000 copias/ml). Se detectó una cepa con la mutación V106A en el gen de la transcriptasa inversa, que confiere resistencia a la nevirapina (fármaco que había formado parte de su régimen terapéutico), a pesar de lo cual la paciente mantuvo la viremia indetectable durante el tratamiento. Tras 8 meses sin tratamiento ARV y con una CV de 65.000 copias/ml, se realizó un nuevo estudio genotípico que mostró un virus salvaje o *wild-type* (sin mutaciones de resistencia a los ARV). Tras 24 semanas en tratamiento ARV (fos-amprenavir+3TC+RTV+ABC), la paciente mantenía una CV detectable no alcanzando niveles terapéuticos de fos-amprenavir. Se realizó un nuevo estudio genotípico (CV de 500 copias/ml) que constató el desarrollo de dos nuevas mutaciones en el gen de la transcriptasa inversa del VIH (M184V, K65R). Dichas mutaciones están asociadas a resistencia a los ITIAN (ABC, ddl, 3TC, ddC, tenofovir), que formaban parte de su régimen terapéutico. Fue entonces cuando se decidió retirar a la paciente del ensayo clínico, y la familia solicitó la posibilidad de la IPT.

Los pacientes 4 y 5 pueden considerarse no respondedores, dado que mantuvieron una viremia detectable durante gran parte del seguimiento en TARGA, que fue atribuida a problemas de adherencia. Se realizó un estudio genotípico en el paciente 5 a los 6 meses de TARGA (CV de 5.490 copias/ml), detectándose la mutación V106A en el gen de la transcriptasa inversa que confiere resistencia a la nevirapina, y la mutación M184V que confiere resistencia a 3TC, siendo ambos fármacos parte de su régimen terapéutico, motivo por el cual se sustituyó la nevirapina por el nelfinavir y posteriormente la combinación de ITIAN (d4T-ddI-3TC) por ABC-ZDV, con un control ulterior de la CV durante 12 meses hasta el momento de la IPT (**Figura IV.15**).

A nivel inmunológico, durante el seguimiento en TARGA los pacientes 1, 3, 4 y 6 se mantuvieron dentro de la categoría inmunológica 1 de los CDC (**Apéndice 2**). La paciente 2 descendió durante el TARGA a la categoría inmunológica 3: cifra *nadir* y porcentaje de linfocitos CD4+ de 336 células/mm³ y 13% respectivamente, a pesar de una respuesta virológica óptima. Dicha inmunodepresión fue recortada en el tiempo (6 meses), estando con CV indetectable, y coincidió con un cuadro clínico de diarrea, pérdida de peso y anorexia, con sospecha no confirmada de celiaquía (dos biopsias intestinales normales). Respecto al paciente 5, la cifra *nadir* y el porcentaje de linfocitos CD4+ fueron de 390 células/mm³ y 13% respectivamente, y coincidieron con un repunte de CV tras una supresión temporal de la misma (**Figura IV.15**). La inmunodepresión fue asimismo recortada en el tiempo (6 meses).

Todos los pacientes padecieron algún evento clínico que no requirió hospitalización durante TARGA: otitis media (pacientes 1, 2 y 6, episodios acumulados 5), infección de vías respiratorias altas (todos, episodios acumulados 27), gastroenteritis (todos, episodios acumulados 12), varicela no complicada (pacientes 2 y 5), estomatitis a germen desconocido (paciente 5), neumonía vírica (paciente 4), y muguet de duración inferior a un mes (paciente 5). Todos los eventos clínicos referidos quedan incluidos en las categorías clínicas N y A de los CDC (**Apéndice 1**).

Figura IV.15. Evolución inmunoviroológica durante TARGA.

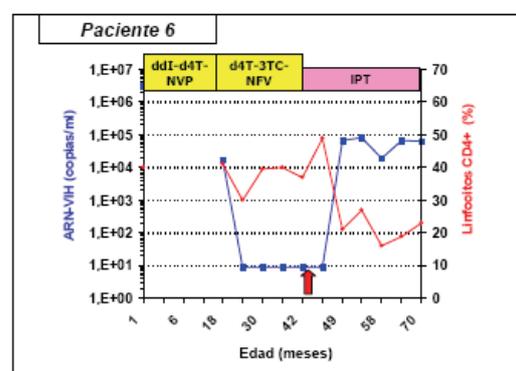
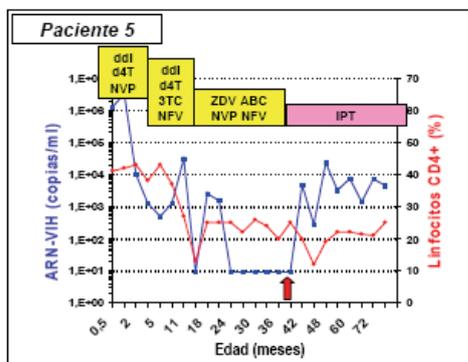
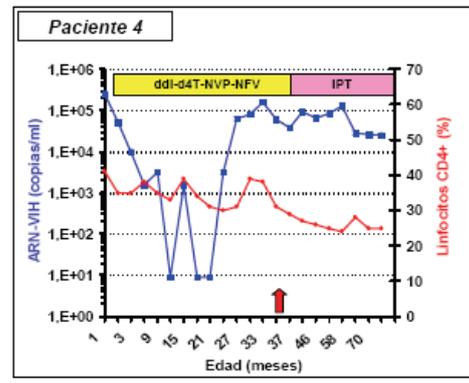
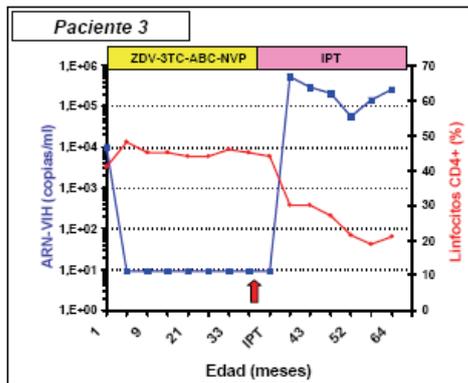
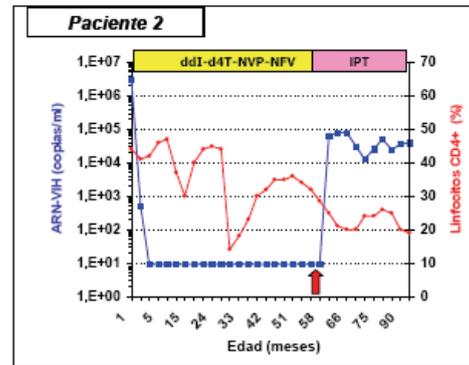
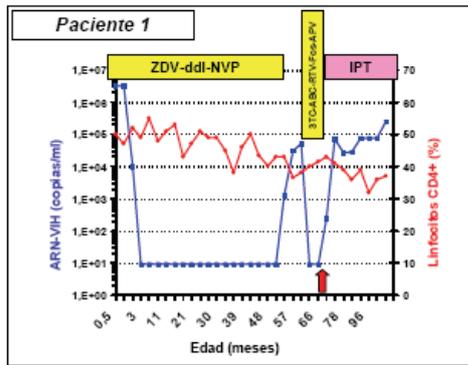


Tabla IV.9. Evolución clínica e inmunoviológica durante TARGA. El sombreado en gris representa a los pacientes que reiniciaron el tratamiento ARV.

Paciente	Edad al inicio de TARGA (meses)	Estadio clínico CDC	Cifra nadir linfocitos CD4+		Tiempo hasta CV indetectable (meses)	Tiempo en TARGA (años)	Tiempo con CV indetectable (años)	Régimenes TARGA	Estudio genotípico durante TARGA
			(%)	(células/mm ³)					
1	0,5	N	31	1.200	3	5,25	4	ZDV+ddl+NVP→ 8 meses sin ARV → f-apv/r+3TC+ABC	R a NVP (V106A) ¹ → WT ¹ → R a ABC, ddl, 3TC, ddC, tenofovir (M184V, K65R) ¹
2	1,9	N	14	336	3	4,83	4,53	d4T+ddl+NVP+NFV	NR
3	1	N	41	1.599	6	3,5	3,08	ZDV+3TC+ABC+NVP	NR
4	1,4	A	27	1.134	12	2,9	0,25	d4T+ddl+NFV+NVP	NR
5	1,4	N	13	390	12	3	1,08	d4t+ddl+NVP→ d4T+ddl+3TC+NFV→ ABC+ZDV+NVP+NFV	R a NVP (V106A), R a 3TC (M184V) ²
6	0,5	N	25	1.100	24	3,85	2,01	d4T+ddl+NVP→ d4T+3TC+NFV	R a d4T, ZDV (T215Y, D67N), R a NVP y EFV (K103N, Y181C) ³
	1,2		26	1.117	9	3,67	2,54	Valores medianos	

R, resistencia; NR, no realizado. WT, *wild-type*. ¹ Realizado a las 6 semanas de suspender la primera combinación terapéutica. ¹ Realizado tras 8 meses sin ARV. Equivale al basal del ensayo clínico con fos-amprenavir. ¹ Realizado a las 24 semanas de haber entrado en el ensayo del fos-amprenavir. Motiva salida del ensayo. ² Realizado a los 6 meses de iniciada la primera combinación terapéutica por persistencia de CV detectable. Motiva cambio de régimen. ³ Realizado a los 18 meses de iniciada la primera combinación terapéutica por persistencia de CV detectable. Motiva cambio de régimen.

Evolución tras la interrupción programada de TARGA

En el momento de la IPT, la edad mediana era de 3,7 años (rango: de 3,0 a 6,0 años) (**Tabla IV.10**). Las razones que llevaron a la IPT fueron el deseo de los padres (n=3) y el fracaso virológico por problemas de adherencia a los ARV (n=2, pacientes 4 y 5). En la paciente 1, tanto el deseo familiar como los problemas farmacocinéticos con el fos-amprenavir llevaron a la IPT.

Antes de la IPT, todos los pacientes habían estado un mínimo de dos años asintomáticos (sin padecer ningún evento clínico relacionado con la infección por el VIH) y con una cifra normal de CD4+ ($\geq 25\%$).

En el momento de la IPT, todos los niños permanecían libres de cualquier condición clínica activa relacionada con la infección por el VIH, y en el estadio clínico A de los CDC (**Apéndice 1**), a excepción del paciente 4 (estadio B). Respecto a su situación inmunológica, la cifras porcentuales y absolutas medianas de linfocitos CD4+ eran del 36,4% (rango: del 25% al 49%, estadio inmunológico 1 de los CDC) y de 1194 células/mm³ (rango: de 773 a 2.610 células/mm³), respectivamente. Respecto a la CV pre-IPT, era indetectable en los pacientes 2, 3, 5 y 6. En la paciente 1 era detectable debido a los problemas arriba mencionados con el fos-amprenavir y en el paciente 4 debido a problemas de adherencia y resistencias. Sorprendentemente, el paciente 5 que había permanecido con CV detectable durante prácticamente todo el seguimiento en TARGA (CV detectable durante 1,92 años de los 3 años totales en TARGA), presentaba una CV indetectable durante los 12 meses previos a la IPT.

Los pacientes han permanecido una mediana de más de tres años sin tratamiento ARV (39 meses; rango: de 27 a 68 meses) (**Tabla IV.10**). Durante el seguimiento, tres pacientes han reiniciado TARGA. En dos casos, debido a una inmunodepresión asintomática: paciente 2, reinicio a la edad de 7,5 años por descenso de la cifra de linfocitos CD4+ hasta 250 células/mm³ (y 20%) después de 34 meses en interrupción, y paciente 5, reinicio a la edad de 8,5 años por un descenso del porcentaje de linfocitos CD4+ hasta el 16% (y 560 células/mm³) después de 68 meses en interrupción. La paciente 6 reinició el tratamiento ARV a la edad de 6,4 años por deseo de los padres después de 27 meses en interrupción, y con una cifra de linfocitos CD4+ de 409 células/mm³ y un porcentaje del 29%.

Tabla IV.10. Evolución durante la interrupción programada del tratamiento antirretroviral. El sombreado en gris representa a los pacientes que reiniciaron el tratamiento ARV

Paciente	Edad al inicio de la IPT (años)	Carga viral (ARN-VIH) al inicio IPT (\log_{10} copias/ml)	Inicio IPT			Tiempo en IPT (meses)	Último control		
			Categorías clínica e inmunológica de los CDC	Linfocitos CD4+ (%)	Linfocitos CD4+ (células/mm ³)		Categoría clínica de los CDC	Linfocitos CD4+ (%)	Linfocitos CD4+ (células/mm ³)
1	6	2,3	N1	41,8	1.247	44	A	32	960
2	5	<50	N3	28,5	1.200	34	A	20	250
3	3,4	<50	N1	44	2.610	29	B	21	1.155
4	3	4,7	A1	31	1.187	61	A	20	640
5	3	<50	N3	25	816	68	A	16	560
6	4	<50	N1	49	773	27	A	29	409
3,71				36,4	1.194	39	Mediana 20,5	600	

Evolución clínica tras la IPT

A lo largo del seguimiento realizado tras la IPT, la paciente 3 desarrolló a la edad de 4 años y medio una enfermedad meningocócica (bacteriemia por meningococo no serotipable más rash cutáneo, sin alteración hemodinámica ni meningitis) y, simultáneamente, una varicela no complicada. Fue tratada con cefotaxima y aciclovir endovenosos, con buena respuesta clínica, y no requirió otras medidas terapéuticas ni ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos. La enfermedad meningocócica se engloba en la categoría clínica B de los CDC y, en esta paciente, supuso una progresión de la infección VIH (del estadio N al estadio B). En el momento de desarrollar dicha complicación infecciosa, la paciente tenía una cifra de linfocitos CD4+ de 1500 células/mm³ y un porcentaje del 19,3%. Se consideró que la meningococemia fue favorecida por el periodo de inmunodepresión transitoria que acontece durante la incubación de la primoinfección por virus *Varicella zoster* (Lisse 2005) y, dada la buena evolución y de acuerdo con la familia, se mantuvo a la paciente en IPT. Dieciocho meses más tarde, la niña permanece libre de síntomas y estable inmunológicamente, aún sin TARGA.

Por lo demás, no se ha registrado a lo largo del seguimiento ningún fallecimiento, ni otros eventos clínicos clasificables en las categorías B o C de los CDC (**Apéndice 1**).

Otros procesos intercurrentes ocurridos tras la IPT y que no motivaron ingreso hospitalario fueron los siguientes: infecciones respiratorias de vías altas (23 episodios), broncoespasmo (1 episodio), estomatitis herpética (1 episodio), otitis media aguda (5 episodios) y diarrea aguda (1 episodio). Dichas patologías deben considerarse infecciones comunes en la edad pediátrica y quedan englobadas en la categoría clínica A de los CDC. En el grupo A, se observan diferencias estadísticamente significativas en relación a la incidencia de patologías comunes en la edad pediátrica entre los periodos preinterrupción y postinterrupción (17,5 y 11,78 episodios por 100 paciente-año durante TARGA y tras la IPT, respectivamente; $p=0,03$).

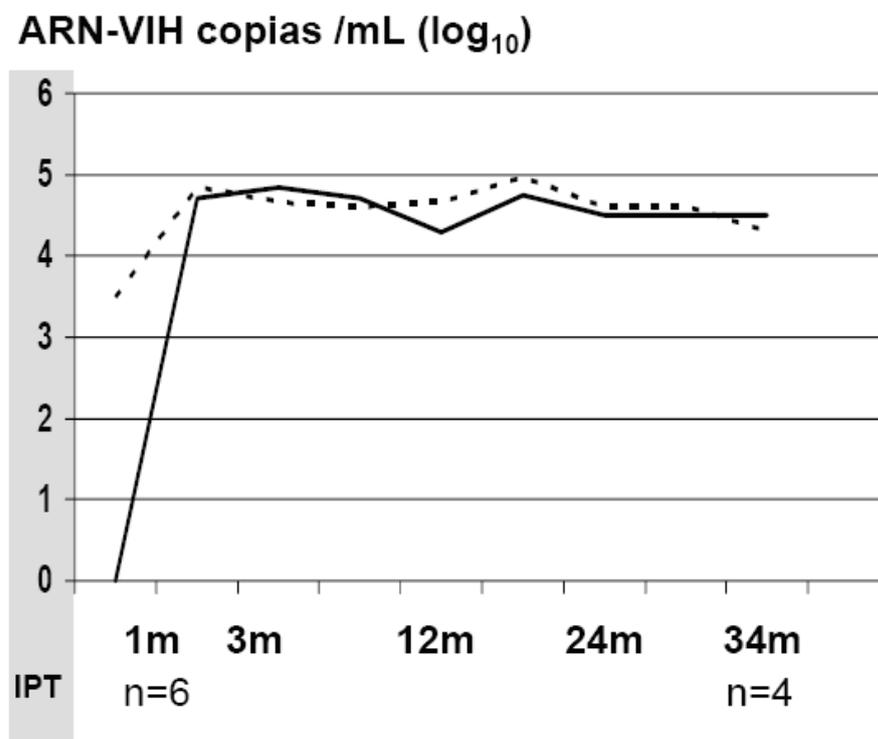
Evolución virológica tras la IPT

Un mes tras la IPT, aquellos pacientes que durante TARGA presentaban una supresión completa de la viremia plasmática (pacientes 2, 3, 5 y 6), experimentaron un repunte de la carga viral (ARN-VIH; mediana 4,6, rango de 3,6 a 5,7 \log_{10} copias/ml). En los pacientes con virus detectable en plasma en el momento de la IPT, el repunte tras interrumpir todo tratamiento ARV fue menor (paciente 1: de 2,3 a 5,2 \log_{10} copias/ml) o incluso no existió (paciente 4: de 4,7 a 4,5 \log_{10} copias/ml) (**Figura IV.16**).

Ningún paciente experimentó síntomas definitorios de síndrome retroviral agudo en las primeras semanas de la IPT, síndrome que se ha relacionado con el repunte de la viremia plasmática tras la interrupción de TARGA en el adulto (*Colven 2000*).

Tras el repunte inicial, la carga viral plasmática (ARN-VIH) permaneció prácticamente invariable durante todo el seguimiento (incremento mediano de 0 \log_{10} copias/ml y mes, rango: 0-0,016 \log_{10} copias/ml y mes), y alcanzó valores inferiores al compararla con la mediana de la carga viral plasmática más alta del periodo pre-TARGA (valor mediano pre-TARGA 6,1 \log_{10} copias/ml versus valor mediano al final del seguimiento en IPT: 4,65 \log_{10} copias/ml) ($p=0,027$).

Figura IV.16. Evolución virológica tras la IPT de los pacientes con CV detectable al inicio de la IPT (en punteado, n=2) y de los pacientes con CV indetectable al inicio de la IPT (en continuo, n=4). Se representan los valores medianos de la CV en \log_{10} ARN-VIH copias /ml



Los estudios genotípicos del gen de la transcriptasa inversa y de la proteasa del VIH se realizaron al mes de la IPT en los seis pacientes del estudio.

En los pacientes 1, 2 y 3, se halló una población predominante de virus salvaje (*wild-type*): los pacientes 2 y 3 habían tenido una respuesta óptima a TARGA, mientras que el paciente 1 había presentado los problemas farmacocinéticos arriba mencionados con el fos-amprenavir, con una consiguiente dificultad en el control de la replicación viral.

En los pacientes que habían estado en fracaso virológico durante TARGA por mala adherencia (pacientes 4 y 5), el análisis genotípico que se realizó en IPT detectó en ambos casos la mutación (K103N) en el gen de la transcriptasa inversa, que confiere resistencia a nevirapina y efavirenz (la TARGA que habían recibido incluía

nevirapina). Además, el paciente 5 mostraba la mutación en el gen de la transcriptasa inversa (M184V) que había desarrollado durante TARGA. En el caso del paciente 6, tras la IPT se observan las mismas mutaciones que presentaba durante TARGA, añadiéndose la mutación K70R que se asocia a resistencia a zidovudina y d4T (**Tabla IV.11**).

Tabla IV.11. Genotipado del VIH, pre y post interrupción, de los pacientes del grupo A

Paciente	Régimen TARGA	Fracaso virológico	Genotipos VIH		
			Basales	Durante TARGA	1 mes tras la IPT
1	ZDV+ddl+NVP→ f-apv/r+3TC+ABC	sí, con f-apv	WT	R a NVP (V106A) → WT→ R a ABC, ddl, 3TC, ddC, tenofovir (M184V, K65R)	WT
2	d4T+ddl+NVP+NFV	no	WT	NR	WT
3	ZDV+3TC+ABC+NVP	no	WT	NR	WT
4	d4T+ddl+NFV+NVP	sí	WT	NR	R NVP+EFV (K103N)
5	d4T+ddl+NVP→ d4T+ddl+3TC+NFV→ ABC+ZDV+NVP+NFV	sí	WT	R a NVP (V106A), R a 3TC (M184V)	R NVP+EFV (K103N) R 3TC (M184V)
6	d4T+ddl+NVP→ d4T+3TC+NFV	sí	NR	R a ZDV + d4T (T215Y, D67N) R a NVP + EFV (K103N, Y181C)	R ZDV + d4T (T215Y, D67N, K70R); R NVP+EFV (K103N, Y181C)

R, resistencia; NR, no realizado. WT, *wild-type* o virus salvaje.

Evolución inmunológica tras la interrupción

Tras la IPT y durante todo el periodo de seguimiento posterior a ésta (mediana 35,5 meses; rango: de 27 a 68 meses), se produjo en todos los pacientes un descenso de la cifra porcentual y absoluta de linfocitos CD4+ (valores medianos: de 1194 a 600 células/mm³, $p=0,028$, y de 36,4% a 20,5%, $p=0,028$), con las siguientes velocidades medianas de descenso: -10 células/mm³ por mes, y -0.48% por mes (**Figura IV.17**). Dos pacientes (1 y 6) permanecieron en la categoría inmunológica 1 de los CDC, mientras que los cuatro restantes (pacientes 2, 3, 4 y 5) presentaron una caída de los CD4+ a valores comprendidos en la categoría inmunológica 2 de los CDC, indicativa de inmunodepresión moderada.

La caída del porcentaje de linfocitos CD4+ fue más rápida en los primeros 3 meses tras la IPT con respecto al periodo posterior (valores medianos de descenso: -5,1% por mes en los primeros 3 meses *versus* -0,08% por mes posteriormente; $p=0,027$). En el paciente 5, incluso se observó un incremento en el porcentaje de linfocitos CD4+ en el segundo periodo (pasados los tres primeros meses de la IPT): del 20,5% al 29%.

El grupo de pacientes con CV indetectable al inicio de la IPT y, pues, mayor repunte de la CV con la IPT, presentaron un descenso de la cifra de linfocitos CD4+ que fue más acusada con respecto a los dos pacientes con CV detectable en el momento de la IPT (**Figura IV.18**).

Figura IV.17. Evolución del recuento porcentual de linfocitos CD4+ tras la IPT (valores medianos y rango).

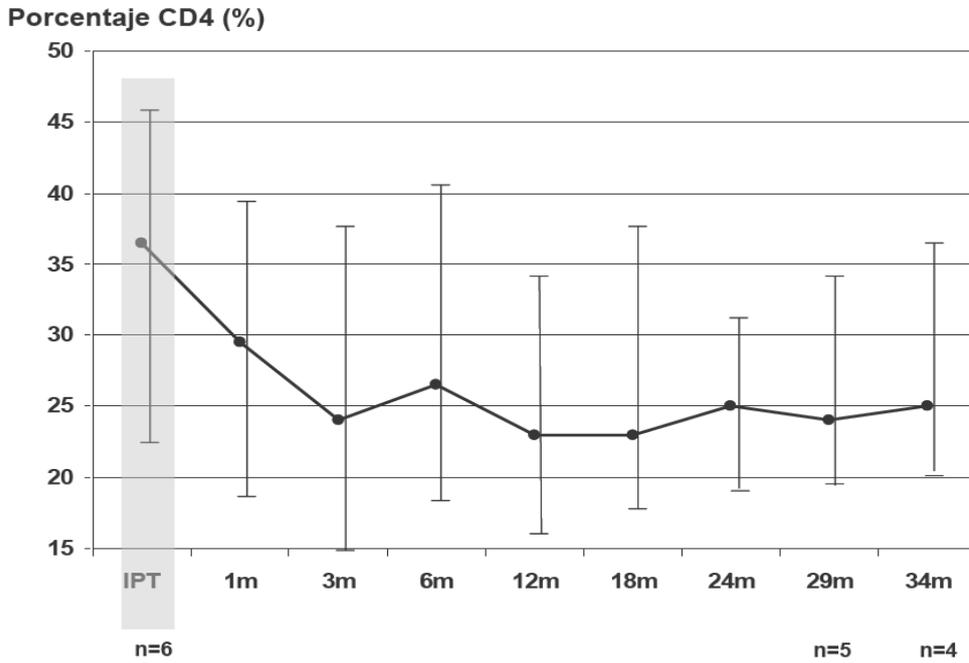
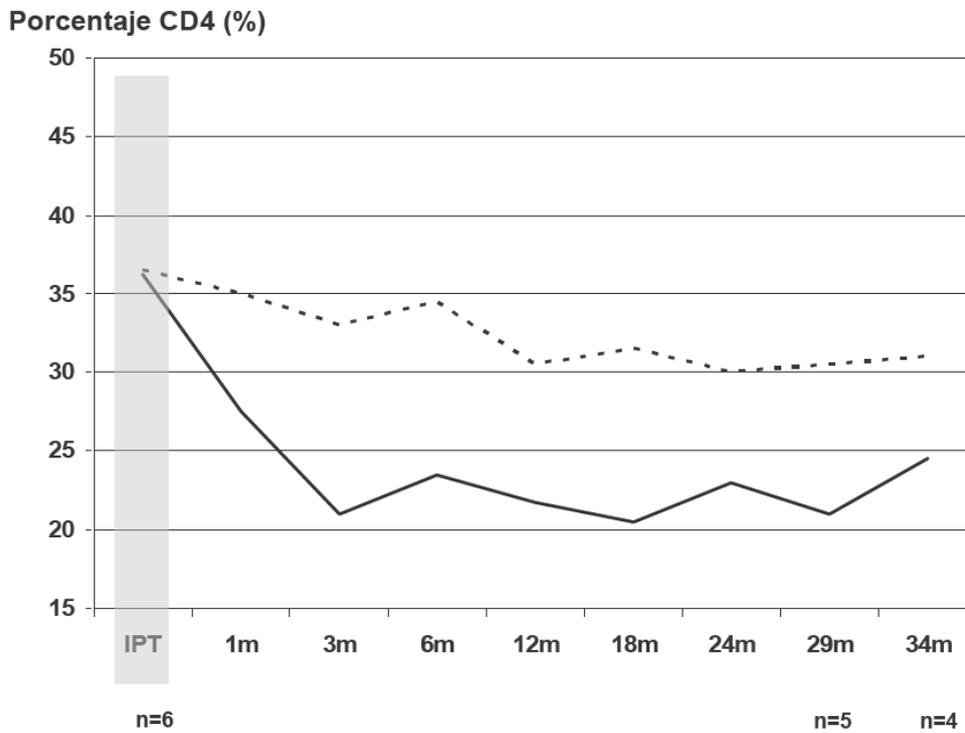


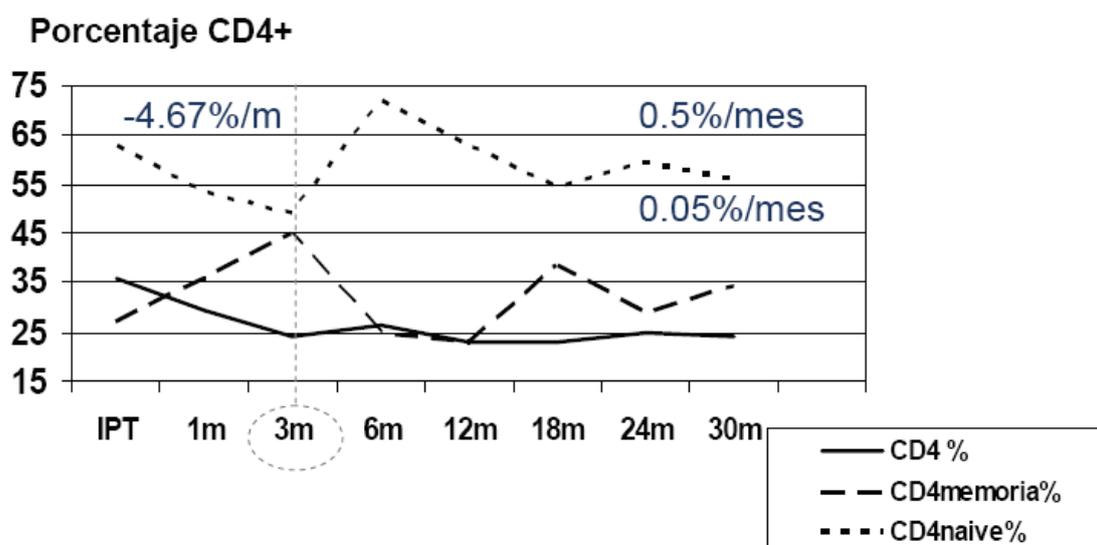
Figura IV.18. Evolución del recuento porcentual de linfocitos CD4+ tras la IPT de los pacientes con CV detectable al inicio de la IPT (en punteado, n=2) y de los pacientes con CV indetectable al inicio de la IPT (en continuo, n=4). Se representan los valores medianos.



En el momento de la IPT, el porcentaje mediano de linfocitos CD4+ memoria (CD45RO+) fue del 27% (rango: del 14 al 51%), y el de linfocitos CD4+ *naïve* (CD45RA+) del 63% (rango: del 45 al 85%). Ambos valores se hallan dentro del rango de normalidad para niños sanos de 2 a 6 años (*Hulstaert 1998*).

En los primeros tres meses que siguen a la IPT, se observó un rápido descenso del porcentaje de linfocitos CD4+ *naïve* (-4,7% por mes). Pasados los 3 meses, el porcentaje de linfocitos CD4+ *naïve* se recupera parcialmente y de forma progresiva a un ritmo de +0,5% por mes durante los 27 meses siguientes. A los 30 meses de la IPT (edad mediana 6,2 años), la cifra mediana de linfocitos CD4+ *naïve* es del 56%, inferior a la inicial, aunque se aproxima al límite inferior del rango de normalidad para niños sanos de 2 a 6 años (del 59 al 68%; *Hulstaert 1998*). Respecto a los linfocitos CD4+ memoria, debido al hecho de que los porcentajes de CD4+ *naïve* y memoria deben sumar alrededor del 100%, su evolución será la inversa a la descrita para la población *naïve*; a los 30 meses de seguimiento, la cifra mediana ha aumentado ligeramente, a un valor del 35% (**Figura IV.19**).

Figura IV.19. Evolución del porcentaje de linfocitos CD4+, y de las subpoblaciones de linfocitos CD4+: memoria (CD45RO+) y *naïve* (CD45RA+), valores medianos.



Se dispone de datos sobre la respuesta inmune específica frente el VIH (producción de IFN- γ , mediante técnica de ELISPOT), antes y después de la IPT para la mayoría de los pacientes en el grupo A. En todos los casos, se había completado previamente el Calendario Vacunal vigente de acuerdo a su edad. Ninguno de ellos había recibido la vacuna contra la tuberculosis (bacilo de Calmette-Guérin) ni había presentado infección o enfermedad por *Mycobacterium tuberculosis*.

Así, durante el periodo en que los pacientes recibían TARGA (**Tabla IV.12**), tan sólo el paciente 5 presentó una respuesta inmune específica positiva frente al antígeno p24 (160 SFC/10⁶ CMSP). Aunque en el momento del estudio este paciente había conseguido inhibir la replicación viral, previamente había permanecido 24 meses con CV detectable, lo que explicaría este resultado. En el resto de casos, la respuesta específica al antígeno p24 del VIH fue negativa.

Respecto al resto de antígenos, destaca la falta de respuesta frente a la candidina, el toxoide tetánico y la tuberculina. En el caso del CMV, también es llamativo el hecho de que sólo dos pacientes presentaran una respuesta positiva. Los resultados podrían atribuirse a la falta de exposición al antígeno testado dada la corta edad de los pacientes, a excepción del toxoide tetánico, pues todos los pacientes habían recibido varias dosis del mismo, según establecía el Calendario vacunal vigente.

Tabla IV.12. Respuesta inmune específica a distintos antígenos durante el TARGA en los pacientes del grupo A

Paciente	Edad (meses)	ARN-VIH (copias/ml)	Producción de IFN- γ en respuesta a diferentes antígenos (número de SFC/10 ⁶ CMSP)				
			p24	CMV	candidina	toxoides tetánico	TB
1	34	<20	0	0	10	0	0
2	22	<20	0	0	0	0	0
3			(no realizado)				
4	16	1700	0	60	0	0	0
5	27	<20	160	500	50	0	0
6	36	<20	30	130	30	40	20

La respuesta se considera positiva por encima de 50 SFC/10⁶.

Tras la IPT (**Tabla IV.13**) 4 de los 6 pacientes presentaron una respuesta positiva de gran intensidad frente al antígeno p24 (rango: de 140 SFC/10⁶ CMSP a saturación del método; $p=0,21$ si la comparamos con la previa a la IPT). No se observa una relación directa entre los niveles en plasma de ARN-VIH o el tiempo en IPT y la intensidad de la respuesta frente al antígeno p24. Tampoco se detecta una correlación entre la producción de IFN- γ específica frente al antígeno p24 y la caída de los linfocitos CD4+ tras la IPT. De hecho, los dos pacientes que reiniciaron TARGA por inmunodepresión progresiva durante la IPT (pacientes 2 y 5) presentan una respuesta inmune específica positiva frente al antígeno p24 (paciente 2: 610 SFC/10⁶ CMSP dos meses antes de reiniciar TARGA; y paciente 5: 190 SFC/10⁶ CMSP nueve meses antes reiniciar TARGA). El tercer paciente que reinició TARGA, a petición familiar y sin inmunodepresión, mostró también una respuesta inmune específica positiva al antígeno p24 (paciente 6: 140 SFC/10⁶ CMSP).

Respecto al resto de antígenos, nos llamó la atención ninguno de los 6 pacientes presentara una respuesta positiva frente a la candidina y al toxoide tetánico, no siendo así para la tuberculina, que se positiviza en los pacientes 5 y 6. Lo más remarcable es el aumento de las respuestas positivas frente a CMV, que aparecen en todos los pacientes salvo el paciente 1, y además son de gran intensidad.

Tabla IV.13. Respuesta inmune específica a distintos antígenos tras la IPT en los pacientes del grupo A. En sombreado gris, los pacientes que reinician TARGA

Paciente	Edad (años)	Tiempo tras IPT (meses)	ARN-VIH (copias/ml)	Producción de IFN- γ en respuesta a diferentes antígenos (número de SFC/10 ⁶ CMSP)				
				p24	CMV	candidina	toxoides tetánico	TB
1	8.7	33	230000	SAT	10	0	10	20
2	7.7	32	43000	610	140	10	0	10
3	4.4	12	55000	20	360	20	20	30
4	7	47	1700	10	1630	0	0	0
5	8	59	6000	190	SAT	20	10	60
6	6.2	25	17300	140	120	0	40	70

SAT, saturado. La respuesta se considera positiva por encima de 50 SFC/10⁶.

Evolución de los pacientes que reinician TARGA

Los tres pacientes (2, 5 y 6) que reiniciaron TARGA tras la IPT recibieron un nuevo régimen terapéutico en todos los casos:

- Paciente 2: 3TC + ZDV (Combivir®) + LPV/RTV → Combivir® + NVP → NVP + FTC (Truvada®) + TDF, por simplificación terapéutica.
- Paciente 5: LPV/RTV + Combivir®.
- Paciente 6: f-apv/ritonavir + 3TC + d4T.

Los tres pacientes mostraron una respuesta virológica óptima con la reintroducción del TARGA (ARN-VIH inferior a 50 copias/ml a los 3-4 meses), y paralelamente se ha observado una recuperación de las cifras absolutas y porcentuales de linfocitos CD4+ (≥ 350 céls/mm³ y/o $\geq 25\%$) en los 3 meses siguientes a la reintroducción de TARGA.

Si comparamos a los dos pacientes que reinician TARGA por inmunodepresión progresiva (pacientes 2 y 5) con el resto de pacientes del grupo A, es remarcable que ambos pacientes presentaban las cifras más bajas tanto de linfocitos CD4+ *nadir* como en el momento de la IPT, absolutas como porcentuales. El reducido número de pacientes no permite realizar un análisis estadístico de estas diferencias. El resto de variables clínicas, inmunológicas y virológicas no parecen diferir entre ambos subgrupos dentro del grupo A.

B/ INTERRUPCIÓN PROGRAMADA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES TRATADOS EN INFECCIÓN CRÓNICA

Se incluyeron un total de 25 pacientes con infección vertical por VIH tratados por primera vez con TARGA en la fase crónica de la infección, es decir, más allá de las 12 semanas de vida. Se distinguen el grupo de pacientes que realizó IPT (grupo B, n=12) y el grupo que mantuvo dicho tratamiento (grupo C, n=13), que se utilizó como grupo de comparación.

Tabla IV.14. Características clínicas, inmunológicas y virológicas al diagnóstico de la infección VIH y al inicio de TARGA de los grupos B y C. Todas las variables se expresan en mediana (rango) si no se especifica de forma diferente.			
	Grupo B	Grupo C	p
Sexo femenino, n° (%)	9 (75)	4 (31)	ns
Categoría Clínica CDC al diagnóstico, n° (%)			
N	0 (0)	0 (0)	ns
A	4 (33)	3 (23)	
B	6 (50)	4 (31)	
C	2 (17)	6 (46)	
Al diagnóstico de la infección VIH			
Edad (años)	1.8 (0.2-4.9)	1 (0.3-13)	ns
CD4 porcentaje [#]	28 (16-59)	20 (1-29)	ns
CD4 número absoluto (/mm ³) [#]	1015 (500-6400)	360 (7-1985)	ns
ARN-VIH copias /ml (log ₁₀) [*]	5.4 (4.9-6.4)	5.6 (4.8-7.2)	ns
Mono- o biterapia con ITIAN, n° (%)			
Carga viral más alta, copias/ml (log ₁₀)	5.2 (4.4-6.6)	5.2 (4.7-6.9)	ns
Valores nadir			
CD4+ porcentaje	21 (3-32)	14 (1-28)	ns
CD4+ número absoluto (/mm ³)	774 (72-2496)	400 (7-1985)	ns
Al inicio de TARGA			
Edad (años)	5.7 (0.7-10.9)	7.8 (0.7-13)	ns
CD4 porcentaje	26 (3-59)	22 (1-44)	ns
CD4 número absoluto (/mm ³)	929 (72-1947)	624 (79-2620)	ns
Carga viral, copias /ml (log ₁₀)	4.9 (3.8-6.5)	5.2 (3.6-7.2)	ns
Genotipo salvaje del VIH-1 ^{&} , n° (%)	8 (73)	8 (80)	ns
Régimen basado en IP, n° (%)	11 (92)	10 (77)	ns

[#]sólo disponible en 16 pacientes; ^{*}sólo disponible en 11 pacientes; [&]sólo disponible en 11 y 10 pacientes de los grupos B y C respectivamente. NS, no significativo

Las características basales en el momento del diagnóstico de la infección por VIH y al inicio de TARGA son similares entre ambos grupos (**Tabla IV.14**). Se evidencia un retraso entre el diagnóstico de la infección VIH y el inicio de TARGA (de 1,8 años de edad al diagnóstico a 5,7 años al inicio de TARGA en el grupo B, y de 1 año a 7,8 años en el grupo C, valores medianos). Debido a la progresión de la infección VIH, la mayoría de pacientes desarrollaron síntomas relacionados con la misma antes de iniciar en tratamiento ARV; en total, un tercio de los pacientes presentaban enfermedad definitoria de SIDA (categoría C de los CDC; encefalopatía asociada al VIH en todos los pacientes, excepto en un caso que debutó con síndrome de emaciación más infección diseminada por virus *Herpes*). Asimismo, la mayoría presentaban porcentajes *nadir* de linfocitos CD4+ por debajo de la normalidad al inicio de TARGA: de 24 a 15% (categoría 2 de los CDC) en 8 pacientes del grupo B y en 4 del grupo C, y menos del 15% (categoría 3 de los CDC) en 2 pacientes del grupo B y en 7 del grupo C.

El análisis basal (previo al inicio del tratamiento ARV) del gen de la transcriptasa inversa y la proteasa del VIH identificó mutaciones que se asocian a resistencia a los ITIAN en la mayoría de pacientes de ambos grupos que habían recibido mono o bi-terapias sub-óptimas con ITIAN antes del inicio de TARGA (**Tabla IV.16**), 3 en el grupo B y 7 en el grupo C.

Evolución tras iniciar la TARGA

La situación de los pacientes del grupo B y C al inicio de TARGA no difiere significativamente: la edad de los pacientes del grupo C es mayor (valor mediano de 7,8 años en el grupo C respecto a 5,7 años en el grupo B). A nivel inmunológico, 5 de los 12 pacientes del grupo B y 8 de los 13 pacientes del grupo C presentaban porcentajes de linfocitos CD4+ por debajo de la normalidad al inicio de TARGA: de 24 a 15% (categoría 2 de los CDC) en 3 pacientes del grupo B y en 4 del grupo C, y menos del 15% (categoría 3 de los CDC) en 2 pacientes del grupo B y en 4 del grupo C.

La mayoría de los pacientes iniciaron una TARGA basada en IPs (nelfinavir, ritonavir, indinavir, amprenavir), exceptuando dos pacientes del grupo B (pacientes 8 y

12) y 3 pacientes del grupo C, que iniciaron un régimen basado en ITINNs (nevirapina o efavirenz) (**Tabla IV.15**).

La respuesta virológica a dicho tratamiento fue óptima en ambos grupos de pacientes, con una supresión de la CV que se mantuvo indetectable durante el tratamiento en todos los pacientes del grupo B (tiempo mediano en TARGA de 5,17 años de los cuales 4,79 años con control completo de la replicación viral (CV indetectable), con un tiempo máximo de CV detectable de 6 meses en el paciente 1), así como en los pacientes del grupo C (tiempo mediano en TARGA de 8,11 años de los cuales 7,61 años con control completo de la replicación viral (CV indetectable), con un tiempo máximo con CV detectable de 11 meses en dos pacientes y 13 meses en 1 paciente, siendo para el resto de pacientes inferior a 6 meses).

Paralelamente, la respuesta inmunológica fue asimismo óptima, y todos los pacientes de ambos grupos (a excepción de un paciente del grupo C) experimentaron una recuperación del porcentaje de CD4+ por encima del 25% (valor mediano del último porcentaje de CD4+ en TARGA de 38,5%, rango 30-46% para el grupo B y 37%, rango 12-43% para el grupo C).

Durante el seguimiento, 6 de los 12 pacientes del grupo B (**Tabla IV.15**) han simplificado TARGA a un régimen basado en ITINN, y 8 de los 13 pacientes del grupo C han simplificado el régimen terapéutico, a uno basado en ITINN (6 pacientes) o en ITIAN (tenofovir, 1 paciente, o Trizivir ®(comprimido combinado que contiene ABC-3TC-ZDV), 1 paciente).

Evolución tras la IPT

En el momento de la IPT, la edad mediana de los niños del grupo B fue de 11 años (rango: 5-17 años; **Tabla IV.15**) y todos ellos cumplían los criterios de inclusión y exclusión requeridos. Han permanecido una mediana de 62 meses en TARGA, de los cuales 56 con carga viral plasmática (ARN-VIH) indetectable y, al menos durante los últimos 24 meses, con valores absolutos y porcentuales normales de linfocitos CD4+ y sin clínica relacionada con la infección VIH.

Las razones principales que motivan la IPT son el deseo de los padres o de los propios pacientes (n=7) y cambios en la distribución de la grasa corporal que se han relacionado con el tratamiento ARV (n=3). En el momento de la IPT, todos los pacientes tenían una CV plasmática por debajo de 50 copias /ml y los valores medianos de linfocitos CD4+ eran, en porcentaje, del 38.5% (rango: 30-46%) y, en valores absolutos, de 858 /mm³ (rango: 404-1575 linfocitos CD4+ /mm³).

Tres niñas reiniciaron TARGA precozmente, a los 2, 3 y 4 meses de la IPT, al detectarse un rápido descenso del porcentaje de linfocitos CD4+ hasta valores del 16%, 8% y 13% (pacientes 3, 10 y 12, respectivamente).

Asimismo, la paciente 3 desarrolló en los 2 meses que siguieron a la IPT una púrpura trombocitopénica monosintomática muy probablemente relacionada con el VIH (descenso de la cifra de plaquetas hasta un valor mínimo de 19000 /mm³). Esta fue la manifestación inicial de la infección VIH en el momento del diagnóstico. La trombocitopenia se recuperó completamente en menos de 30 días tras el reinicio de TARGA.

Estas tres pacientes (3, 10 y 12) no se incluyen en los análisis que siguen a continuación.

El resto de los pacientes del grupo B ha permanecido una mediana de 39 meses en IPT (rango: 24-51 meses). En el seguimiento, otras tres pacientes han reiniciado TARGA debido a: 1) inmunodepresión libre de síntomas en las pacientes 5 y 8, con un descenso en la cifra de linfocitos CD4+ hasta 174 y 180 céls /mm³, tras 33 y 43 meses de IPT, respectivamente y 2) progresión de la hepatopatía crónica por virus de la hepatitis C (hasta la clase C de Child-Pugh, tributaria de trasplante hepático), en la paciente 3, con valores normales de linfocitos CD4+ en el momento de reiniciar TARGA (porcentaje del 44%, y cifra absoluta de 612 /mm³) tras 39 meses de IPT.

Tabla IV.15. Características clínicas e inmunológicas principales de los pacientes que interrumpen TARGA (grupo B); el sombreado gris representa aquellos niños que reinician TARGA.

Paciente	Sexo	Categoría Clínica CDC	Linfocitos CD4+ nadir		Régimen TARGA	Tiempo en TARGA (años)	IPT		
			%	/mm ³			Motivo principal	Edad (años)	Tiempo en IPT (meses)
1	H	A	21	882	d4T-ddI-NFV	5,33	decisión familiar	10,5	38
2	M	B	22	792	d4T-ddI-NFV	3,25	toxicidad hepática	8,4	39
3	M	B	16	976	d4T-ddI-NFV → ZDV-3TC-NVP	5,25	obesidad central	9,3	2
4	M	A	23	1127	d4T-ddI-NFV → d4T-ddI-NVP	4,16	decisión familiar	12	51
5	M	C	21	300	d4T-NVP-NFV	4,75	decisión familiar	13,2	33
6	H	A	23	736	d4T-ddI-NFV → d4T-ddI-NVP	6,08	enfermedad psiquiátrica	14,3	30
7	M	C	32	2496	ABC-ddI-d4T-NFV	4,83	decisión familiar	5,5	39
8	M	B	21	310	d4T-3TC-EFV	2,08	obesidad central	12,7	43
9	M	A	18	882	ZDV-3TC-RTV → ZDV-3TC-NVP	5,08	decisión familiar	7	51
10	M	B	9	376	d4T-ddI-NFV → d4T-ddI-EFV	6,33	decisión familiar	17,2	3
11	H	B	26	756	d4T-ddI-NFV	6,33	decisión familiar	12,6	24
12	M	B	3	72	d4T-NFV-NVP → d4T-NFV-EFV	5,84	lipoatrofia	9,8	4
Valores medianos			21	774		5,17		11,25	39*

H, hombre; M, mujer.

* tras excluir las 3 pacientes que reinician TARGA precozmente

Evolución clínica tras la IPT

Desde el punto de vista clínico, no se ha registrado durante el periodo de seguimiento ningún fallecimiento entre los pacientes de los grupos en estudio. Tampoco se han producido enfermedades consideradas dentro de las categorías clínicas B o C de los CDC (**Apéndice 1**), ni evolución en dichas categorías en ninguno de los pacientes. La trombopenia de la paciente 3 duró menos de 30 días, por lo que no se incluye en la categoría B.

Tras la IPT, dos pacientes del grupo B requirieron ingreso hospitalario por patología infecciosa: la paciente 2 presentó una neumonía, sin germen confirmado, que cursó sin complicaciones al recibir tratamiento con un macrólido, broncodilatadores y oxígeno, y la paciente 5 desarrolló un herpes zóster de un único dermatoma, que se resolvió sin incidencias tras 7 días de aciclovir endovenoso. En el grupo C, y a lo largo de 8,2 años (rango: de 2,2 a 9,5 años) en TARGA, se registraron 9 ingresos hospitalarios por patologías diversas (absceso cutáneo, n=2; vómitos y diarrea aguda, n=5; neumonía bacteriana, n=1; y artritis reactiva, n=1): la evolución clínica fue satisfactoria en todos los casos tras instaurar el tratamiento indicado para cada patología. Las tasas de hospitalización calculadas para ambos grupos son similares (grupo B: 10,34 hospitalizaciones por 100 pacientes-año, y grupo C: 9,76 hospitalizaciones por 100 pacientes-año; $p=0.4822$).

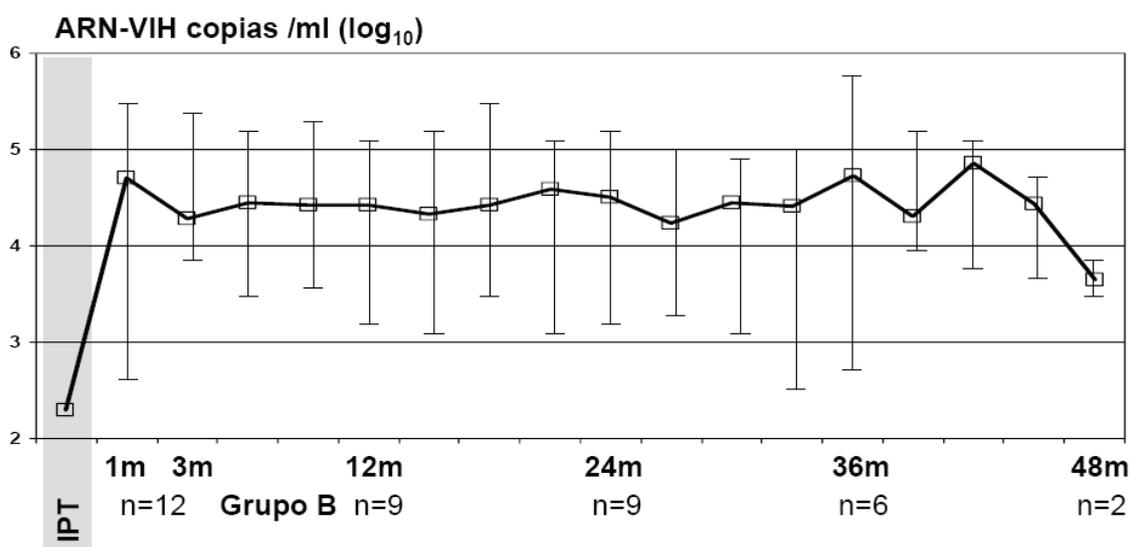
No se hallan diferencias con significación estadística entre ambos grupos en las tasas de incidencia de otras enfermedades consideradas comunes en la edad pediátrica, tales como infecciones de vías respiratorias altas, otitis, enteritis, varicela...), que no requieren hospitalización (31,03 y 39,06 episodios por 100 pacientes-año en los grupos B y C, respectivamente; $p=0.3496$).

Evolución virológica tras la IPT

Un mes tras la IPT, todos los pacientes experimentaron un aumento en la CV plasmática (ARN-VIH) hasta un valor mediano de 4,7 log₁₀ copias/ml (rango: de 2,9 a 5,9 log₁₀ copias/ml), inferior a la carga viral mediana más alta del periodo pre-TARGA, que era de 4,9 log₁₀ copias/ml ($p=0,028$). Ningún paciente presentó síntomas o signos sugestivos de síndrome retroviral agudo en las primeras semanas tras la IPT, como sí se han descrito en la IPT del adulto (*Colven 2000*).

Tras el repunte inicial, la viremia plasmática (ARN-VIH) permaneció estable a lo largo del seguimiento (**Figura IV.20**) y nunca alcanza valores superiores a los observados en el periodo pre-TARGA ($p=0.7$).

Figura IV.20. Evolución virológica tras la IPT (Grupo B). Se representan los valores medianos (y el rango) de la viremia plasmática (en \log_{10} ARN-VIH copias /ml).



Se realizó un estudio genotípico de la transcriptasa inversa y la proteasa del VIH al mes de la IPT (**Tabla IV.9**). Sólo se detectaron mutaciones en el gen de la transcriptasa inversa asociadas a resistencia a los ITIAN, en aquellos pacientes que habían estado expuestos a terapias sub-óptimas (con uno o dos ITIAN) en el periodo pre-TARGA (pacientes 5,8 y 11). Al comparar las mutaciones post-IPT con las identificadas en estos mismos pacientes previamente al inicio del TARGA, no se encontraron diferencias.

Tabla IV.16. Genotipado del VIH, pre-TARGA y tras la IPT, de los pacientes del grupo B

Pc	Regímenes sub-óptimos pre-TARGA	Régimen TARGA	Genotipos VIH	
			Basales*	1 mes tras la IPT#
1	no	d4T-ddI-NFV	ND	WT
2	no	d4T-ddI-NFV	WT	ND
3	no	d4T-ddI-NFV → ZDV-3TC-NVP	WT	WT
4	no	d4T-ddI-NFV → d4T-ddI-NVP	WT	WT
5	ZDV → ZDV-ddI → 3TC-d4T	d4T-NVP-NFV	M41L, T215Y	M41L, T215Y
6	no	d4T-ddI-NFV → d4T-ddI-NVP	WT	WT
7	no	ABC-ddI-d4T-NFV	WT	ND
8	ZDV-ddI	d4T-3TC-EFV	K70R	K70R
9	no	ZDV-3TC-RTV → ZDV-3TC-NVP	WT	WT
10	no	d4T-ddI-NFV → d4T-ddI-EFV	WT	WT
11	ZDV → ZDV-3TC	d4T-ddI-NFV	M184V	M184V
12	no	d4T-NFV-NVP → d4T-NFV-EFV	WT	WT

Pc, paciente; ND, no disponible; WT, *wild-type* o virus salvaje.

*LiPA, Innogenetics, Alpharetta, Ga; #Trugene, Bayer HealthCare, Tarrytown, NY

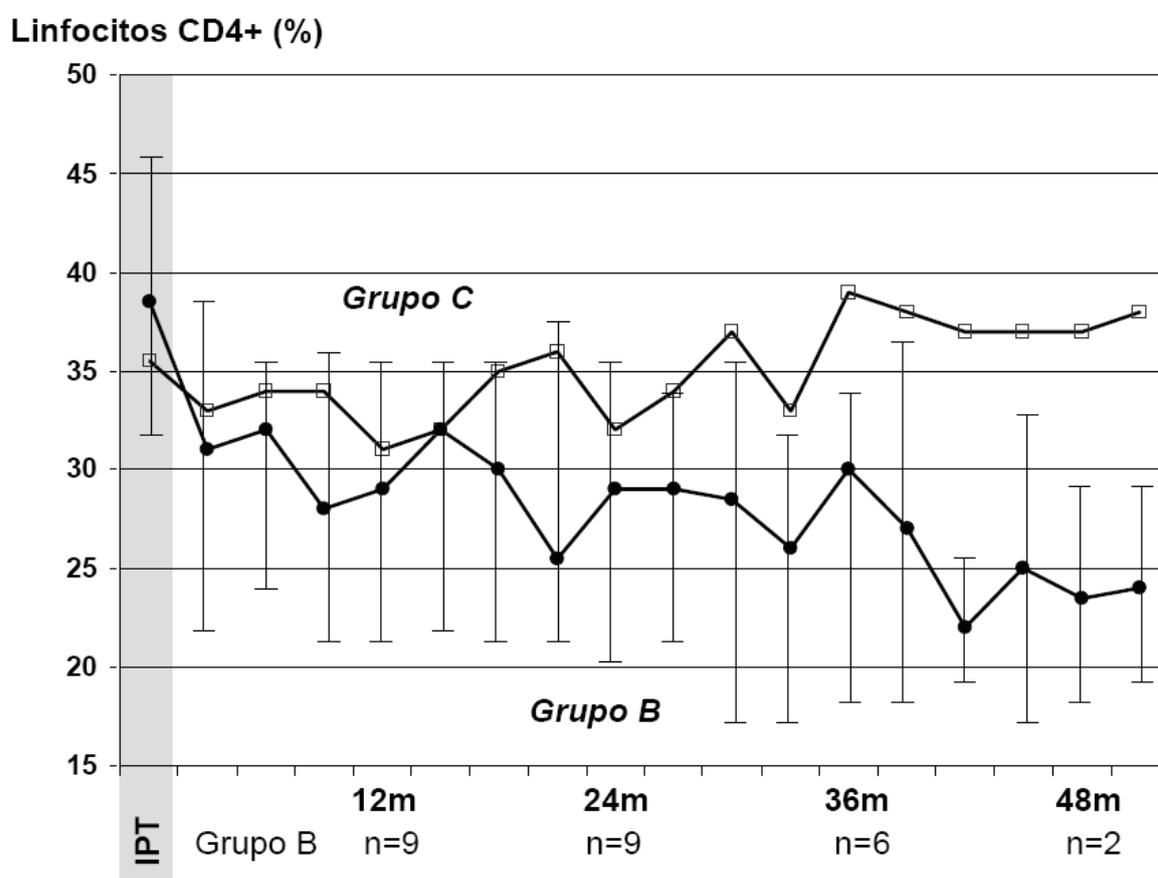
Evolución inmunológica tras la IPT

Tras la IPT y durante el seguimiento posterior (mediana de 39 meses, rango: de 24 a 51 meses), se observó en todos los pacientes un descenso de los linfocitos CD4+, en valores absolutos y porcentuales (de 858 a 614 células/mm³, valores medianos, y del 38,5% al 29%, valores medianos), con las siguientes velocidades de descenso: -14 células/mm³ y mes, y -0,44% y mes. La evolución de los linfocitos CD4+ tras la IPT muestra diferencias si la comparamos con la de los pacientes del grupo C (grupo de comparación, pacientes no interrumpidos): el porcentaje de linfocitos CD4+ a los 3 años de la IPT es del 30% en el grupo B, mientras que tras 3 años de TARGA en el grupo C, el porcentaje de linfocitos CD4+ es de 39% ($p=0,001$) (**Figura IV.21**).

La caída de los linfocitos CD4+ fue más rápida en los primeros 3 meses que siguieron a la IPT que en el periodo posterior (valores medios de descenso: -3% y mes en los primeros 3 meses, *versus* -0,06% y mes desde el cuarto mes de la IPT y hasta el final del seguimiento; $p<0,0001$). De hecho, en los pacientes 1 y 2, se observó

incluso un aumento de los linfocitos CD4+ en el segundo periodo (pasados los tres primeros meses de la IPT): del 28% al 30%, y del 31% al 44%, respectivamente.

Figura IV.21. Evolución de los porcentajes de linfocitos CD4+ en el Grupo B tras la IPT (mediana, rango), y en el Grupo C (sólo valores medianos) de los últimos 4 años de seguimiento.

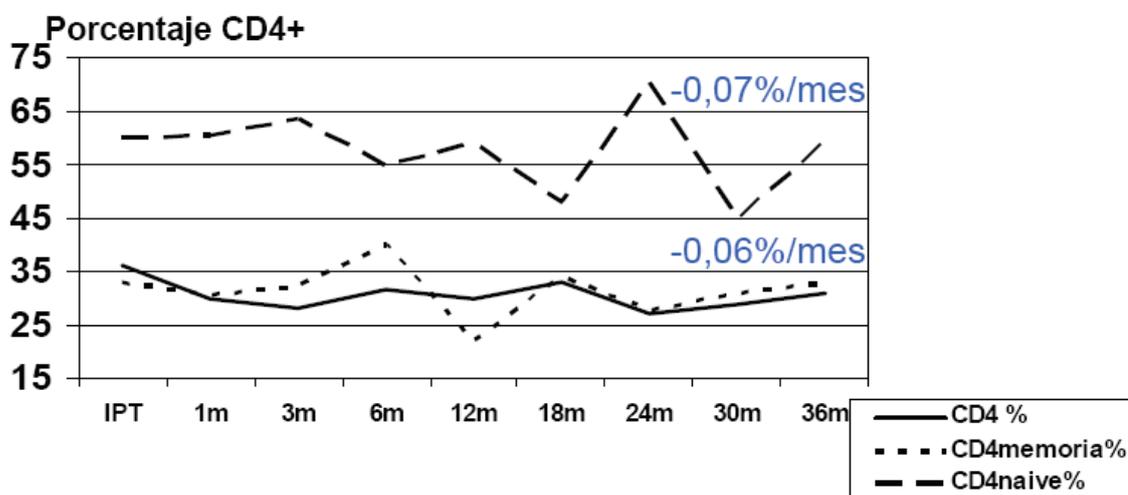


Disponemos de datos sobre la evolución de las subpoblaciones de linfocitos CD4+ de 8 de los 12 pacientes del Grupo B al inicio del seguimiento, y de 5 pacientes a los 36 meses de seguimiento. En el momento de la IPT, el porcentaje mediano de linfocitos CD4+ memoria (CD45RO+) era del 33% (rango: del 26% al 41%), mientras que el porcentaje mediano de linfocitos CD4+ *naïve* (CD45RA+) era del 60% (rango: del 46% al 62%). Ambos valores se hallan dentro del rango de normalidad para niños sanos de 7 a 17 años (*Hulstaert 1998*).

Durante la IPT, observamos una caída progresiva que afectó por igual a ambas subpoblaciones de linfocitos CD4+ (**Fig. IV.22**): descenso de 0,06% y mes para los linfocitos CD45RO+, y de 0,07% y mes para los linfocitos CD45RA+. Al final del seguimiento, la cifra mediana de linfocitos *naïve* (CD45RA+) era del 57,5% (rango: 18% al 79%), y de linfocitos memoria (CD45RO+) del 30% (rango: 13% al 55%); este descenso no fue estadísticamente significativo para ninguna de las dos subpoblaciones y ambos valores se encuentran aún dentro del rango de normalidad para niños sanos de 7 a 17 años (*Hulstaert 1998*), si bien más cerca del límite bajo de dicho rango.

No hemos podido establecer una relación entre el descenso del porcentaje de linfocitos CD4+ memoria con una mayor progresión de la enfermedad VIH tras la IPT debido al tamaño muestral.

Figura IV.22. Evolución del porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos CD4+ (memoria y *naïve*) tras la IPT (valores medianos)



Se estudió la respuesta inmune específica de los linfocitos CD4+ frente al VIH (producción de IFN- γ , mediante técnica de ELISPOT) tras la IPT de 6 de los 12 pacientes del Grupo B, que se compararon con los obtenidos del grupo C, más otros 5 pacientes pediátricos infectados por el VIH por transmisión vertical y en tratamiento TARGA iniciado en la fase crónica de la infección (total, n=18). En todos los pacientes estudiados, se había completado previamente el Calendario Vacunal vigente. Ninguno de ellos había recibido la vacuna contra la tuberculosis (bacilo de Calmette-Guérin).

Tras la IPT (**Tabla IV.17**), cuatro de los seis pacientes presentan una respuesta considerada positiva frente al antígeno p24 del VIH, siendo ésta de gran intensidad (rango: de 630 SFC/10⁶ CMSP a saturación del método). Ninguno de estos seis pacientes tuvo que reiniciar TARGA por inmunodepresión. No observamos una relación directa entre los niveles plasmáticos de ARN-VIH o el tiempo en IPT, y la intensidad de la respuesta frente al antígeno p24. Asimismo, se detectó una respuesta positiva frente a *Cytomegalovirus* en 3 de los 6 niños (rango: de 250 a 680 SFC/10⁶ CMSP), que es considerado un marcador de la respuesta inmune efectora de los linfocitos T memoria y, por lo tanto, indicativo de un buen funcionamiento de la inmunidad (*French 2007*). De los resultados, cabe destacar la ausencia de respuesta positiva a la candidina y al toxoide tetánico, ya que la mayoría de los pacientes presentaron muguet en etapas precoces de la infancia y todos fueron vacunados frente al tétanos. Por el contrario, la falta de respuesta a la tuberculina podría atribuirse a la ausencia de contacto con dicho antígeno.

En el grupo de comparación (**Tabla IV.18**), todos los pacientes tuvieron un control óptimo de la replicación viral en el momento de realizarse el estudio de la inmunidad específica (CV indetectable). A pesar de ello, la respuesta ELISPOT frente al antígeno p24 del VIH fue positiva en 7 de los 18 pacientes (39%; rango: de 50 a 950 SFC/10⁶ CMSP). Si comparamos la tasa de respuesta ELISPOT positiva al antígeno p24 en los pacientes en IPT respecto al grupo de comparación, ésta es significativamente mayor en los primeros (Mann-Whitney test, $p=0,012$). No se observan diferencias en la respuesta frente a *Cytomegalovirus* entre ambos grupos (Mann-Whitney test, $p=0,7$).

Como destacábamos para el grupo B, en este grupo también es llamativa la falta de respuesta al antígeno de la candidina (en ninguno de los pacientes testados), y al toxoide tetánico (sólo positiva en un paciente).

Tabla IV.17. Respuesta inmune específica a distintos antígenos tras la IPT en los pacientes del grupo B

Paciente	Edad (años)	Tiempo en IPT (meses)	ARN-VIH (copias/ml)	Producción de IFN-γ en respuesta a diferentes antígenos (número de SFC/10 ⁶ CMSP)				
				p24	CMV	candidina	toxoides tetánico	TB
1	13.4	36	305	630	0	0	0	0
4	15.5	37	20000	SAT	680	40	0	10
6	16.2	22	40800	20	250	10	20	0
7	8	29	50000	SAT	10	20	0	10
9	10.4	41	6500	SAT	450	40	20	50
11	13.8	13	8000	40	10	10	0	10

Tabla IV.18. Respuesta inmune específica a distintos antígenos en los pacientes del grupo de comparación

Paciente	Edad (años)	ARN-VIH (copias/ml)	Producción de IFN-γ en respuesta a diferentes antígenos (número de SFC/10 ⁶ CMSP)				
			p24	CMV	candidina	toxoides tetánico	TB
1	10.4	<20	30	230	10	0	0
2	5	<20	110	10	0	10	10
3	8	<20	100	0	0	360	0
4	11	<50	0	250	10	20	0
5	3.2	<20	950	680	10	0	0
6	14	<50	80	310	0	40	0
7	17.2	<50	80	60	40	20	30
8	9.3	<50	50	60	40	30	30
9	3.3	<50	20	290	0	0	60
10	8	<200	10	920	10	10	20
11	13.2	<50	70	350	10	0	30
12	10.7	<20	0	610	10	0	0
13	3.2	<200	10	720	20	0	40
14	8.4	<50	20	SAT	30	10	40
15	14.3	<50	40	140	0	10	10
16	3.8	<20	30	130	30	40	20
17	13.7	<20	30	90	20	20	10
18	12.7	<20	20	550	0	0	0

SAT, saturado. La respuesta se considera positiva por encima de 50 SFC/10⁶.

Evolución de los pacientes que reinician TARGA

Las 6 pacientes que reiniciaron TARGA recibieron, en su mayoría, un nuevo régimen simplificado: emtricitabina-tenofovir-nelfinavir, las pacientes 2 y 12; emtricitabina- tenofovir-efavirenz, las pacientes 8 y 10; y emtricitabina-tenofovir-atazanavir/ritonavir, la paciente 7. La paciente 3 reinició con la misma combinación terapéutica (zidovudina- lamivudina-nevirapina) antes de la IPT.

En todos los pacientes, se observó una respuesta virológica óptima tras la reintroducción de TARGA (control de la replicación viral entre 1 y 6 meses después de la reintroducción del tratamiento); paralelamente, la mayoría han recuperando la cifra de linfocitos CD4+ (≥ 500 células/mm³ y/o $\geq 25\%$) en los primeros 4 meses después de reiniciar los ARV (paciente 3: 1 mes; pacientes 8 y 10: 4 meses y paciente 12: 3 meses). El paciente 5 tardó 12 meses en recuperar la cifra de CD4+.

Al comparar los pacientes del grupo B que reiniciaron TARGA (pacientes 2,3,5,8,10 y 11) con el resto de pacientes del grupo B, se detectaron diferencias en las cifras absolutas y en el porcentaje de linfocitos CD4+ *nadir* previas al inicio de TARGA (343 *versus* 882 células/mm³, $p=0,036$; 18.5% *versus* 23%, $p=0,054$), así como en la cifra total de linfocitos CD4+ al inicio de TARGA (625 *versus* 1150 células/mm³, $p=0,006$). Concretamente, las tres pacientes que sufrieron una rápida caída de los linfocitos CD4+ al interrumpir el tratamiento ARV (pacientes 3, 10 y 12) son las que tenían históricamente cifras *nadir* de linfocitos CD4+ más bajas (de 16%, 9% y 3% respectivamente) (**Tabla IV.15**). No se encontraron otras diferencias dentro del grupo B entre los pacientes que más se inmunodeprimen tras la IPT y los que no (tipo de régimen TARGA, el tiempo en tratamiento ARV, la respuesta virológica al tratamiento, los eventos clínicos, la edad en el momento de la IPT, la cifra/porcentaje de linfocitos CD4+ en el momento de la IPT, la velocidad de caída de los linfocitos CD4+ o el repunte de la carga viral tras la IPT).

Capítulo V

Discusión

A/ INTERRUPCIÓN PROGRAMADA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES TRATADOS EN INFECCIÓN AGUDA

La infección VIH de los 6 pacientes que conforman este grupo se debe al fracaso en la aplicación correcta de las medidas de prevención de la transmisión vertical; todos los pacientes nacieron después de la introducción de las recomendaciones de cribado universal de las gestantes para la infección VIH (finales 1994-inicios 1995), de la profilaxis con zidovudina (finales de 1994) y de la cesárea programada en 1998. Los factores asociados con un mayor riesgo de transmisión de la infección VIH en gestantes infectadas han sido establecidos en varios estudios de cohortes. Entre los factores maternos, el estadio avanzado de la enfermedad VIH y el recuento bajo de linfocitos CD4+ se han asociado con un riesgo aumentado de transmisión vertical del VIH (*Mofenson 1999*), como en la madre de la paciente 3 de nuestra serie (cifra de CD4+ materna pre-parto del 14% y 93 células/mm³). Pero el factor más determinante en el riesgo de TV es la carga viral: una CV en el momento del parto superior a 100.000 copias/ml aumenta el riesgo de transmisión vertical en ausencia de tratamiento antirretroviral por encima del 60% mientras que si la carga viral es menor a 1000 copias/ml, la tasa desciende a menos del 5% (*Contopoulos-Ioannidis 1998, Blattner 2000*). En nuestro grupo de pacientes, todas las madres excepto una (paciente 4) tenían una carga viral detectable y superior a 1000 copias/ml periparto, y ninguno de estos niños nació por cesárea programada. En el caso del paciente 4, la CV probablemente se positivizó en las 6 últimas semanas del embarazo debido a un adherencia insuficiente a TARGA en la madre, y la infección se produjo antes del parto (dado que éste fue por cesárea con bolsa íntegra y la determinación de ARN-VIH por PCR fue positiva en el recién nacido en las primeras 72 horas de vida). Entre los factores relacionados con el parto, la rotura prolongada de las membranas, con exposición fetal a las secreciones vaginales incrementa el riesgo de transmisión vertical (*International perinatal HIV Group 1999*), de un 8% si es menor a 4 horas, hasta un 31% si es mayor a 24h, como en los pacientes 3 y 5.

Los pacientes de nuestra serie muestran las características clínicas e inmunovirológicas propias de los pacientes pediátricos diagnosticados durante la primoinfección: se trata de pacientes asintomáticos, portadores de una cepa salvaje o *wild-type* que refleja la no exposición previa a ARV, con una cifra de linfocitos CD4+ dentro de la normalidad y una carga viral muy elevada. En efecto, en el niño se detectan cargas virales elevadas durante los dos primeros años de vida, alcanzando el zénit entre los 2-4 meses de vida con valores medios entre 5 y 6 log₁₀ copias/ml, y sin tratamiento éstas no se estabilizan hasta pasados los 2-4 años en valores entre 4 y 5 log₁₀ copias/ml (Palumbo 1995, DeRossi 1996, Shearer 1997, Gibb 1998). Este hecho refleja la inmadurez del sistema inmune en los niños infectados por el VIH, que es incapaz de contener la replicación viral a diferencia de lo que ocurre en la infección VIH en los adultos.

Las guías sobre el tratamiento antirretroviral en niños infectados por el VIH nacionales (Fortuny 2008), europeas (Sharland 2004) y americanas (Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. Disponible en <http://www.hivatis.org>), recomiendan iniciar tratamiento con TARGA, en todos los pacientes menores de 12 meses, independientemente de la situación clínica, virológica o inmunológica. La progresión de la enfermedad por VIH a esta edad es más rápida, y ni la carga viral ni el recuento de linfocitos CD4+ se han mostrado marcadores válidos del riesgo de progresión. Además, estos primeros meses pueden considerarse una situación de "primoinfección", y por tanto los pacientes tienen la posibilidad de conseguir una respuesta óptima y prolongada tras iniciar precozmente el tratamiento ARV, evitando el deterioro del timo y la afectación del sistema nervioso central (encefalopatía por VIH), con consecuencias irreversibles en la edad pediátrica. El inicio del tratamiento ARV en la fase aguda de la infección en niños ha demostrado un gran beneficio a nivel clínico e inmunológico (Luzuriaga 2004; PENTA 2004; Chiappini 2006, Violari 2007). Las recomendaciones actualmente indican que una vez iniciado el TARGA, éste debe mantenerse de por vida. No existen datos en la literatura sobre IPT en niños tratados en infección aguda.

Nuestros resultados están en concordancia con dicha recomendación. En efecto, durante la TARGA, los seis pacientes muestran una situación clínica que prácticamente es equiparable a la de niños no infectados (estadio clínico N de los CDC, **Apéndice 1**). A nivel inmunológico, los 6 pacientes presentan al final del

seguimiento en TARGA, una cifra de linfocitos CD4+ \geq 25% (estadio inmunológico 1, **Apéndice 2**), aún sin un control de la replicación viral (pacientes 4 y 5, en fracaso virológico), como ha sido descrito previamente (Kovacs 2005).

En adultos, las guías de tratamiento antirretroviral de 2008 (www.aidsinfo.nih.gov/guidelines) plantean como opcional el inicio de TARGA durante la primoinfección, debido a la aún escasa evidencia científica de los beneficios de dicho tratamiento a largo plazo. La decisión última la tomará el paciente, al sopesar los teóricos beneficios sobre los inconvenientes. Los beneficios de tratar la infección aguda (Kassutto 2006) serían: 1) suprimir la replicación viral para reducir la diseminación del VIH, 2) reducir el set-point viral, lo que puede modificar la velocidad de la progresión de la enfermedad, 3) reducir la emergencia de mutaciones virales al disminuir la replicación viral hasta una CV indetectable, 4) reducir el riesgo de transmisión del virus, 5) preservar la función inmune, 6) reducir la severidad del síndrome retroviral agudo. Existen también desventajas al tratamiento de la infección VIH en primoinfección: 1) efectos adversos de la medicación ARV, 2) reducción de la calidad de vida por la toma de la medicación, 3) riesgo de desarrollo de resistencias si la terapia no consigue suprimir completamente la replicación del VIH, 4) inicio precoz de una terapia que por ahora, y en espera de los resultados de nuevos estudios, es de por vida.

El estudio de los beneficios de iniciar TARGA en primoinfección centran en la actualidad gran parte de los esfuerzos de diversos grupos de investigación. La primoinfección en adultos, y de forma más marcada en niños, suele ir acompañada de una tasa de replicación viral muy elevada. Por ello, el daño del VIH sobre sus células diana es muy marcado en esta fase. Las principales células diana son los linfocitos CD4+, y preferentemente los linfocitos activados (a mayor replicación viral, mayor activación del linfocito). Dado que el linfocito CD4+ es primordial en la coordinación de la respuesta inmune específica que frena la replicación viral (humoral y celular), parece lógico pensar que si frenamos el efecto citopático del VIH con el tratamiento ARV, sin anular completamente el estímulo antigénico que el VIH genera (la CV tardará de media 12 semanas en hacerse indetectable), preservaremos la capacidad de respuesta del sistema inmunológico (Hicks 2007). A largo plazo, la replicación viral se podría controlar, al menos parcialmente, en ausencia del tratamiento antirretroviral.

Sobre esta hipótesis se han desarrollado diferentes trabajos en los que pacientes adultos reciben tratamiento antirretroviral durante la primoinfección VIH, pero sólo durante un corto periodo de tiempo (3 a 12-24 meses) (*Lampe.2007; Hecht 2006; Kaufmann 2004*). Tras suspender el tratamiento, se evalúa el nivel de control de la replicación viral. Por ahora, los resultados no son concluyentes. Si bien inicialmente existe un buen control de la viremia, pasados los 12-18 meses sin ARV, la replicación viral vuelve a valores que no difieren de los de la población adulta no tratada en la primoinfección, a pesar de objetivarse una respuesta inmune específica preservada.

El estudio que hemos desarrollado es novedoso porque plantea en la población pediátrica la posibilidad de la IPT tras haber tratado la fase aguda de la infección VIH, y se basa en las siguientes premisas:

1. El riesgo de progresión de la enfermedad en niños disminuye en pacientes no tratados a partir de los 2 años de edad. Los pacientes de nuestra serie interrumpen el tratamiento ARV por encima de los 3 años de edad.
2. El inicio de TARGA en la fase aguda de la infección en niños ha mostrado un gran beneficio a nivel clínico e inmunológico (*Luzuriaga 2004; PENTA 2004; Chiappini 2006, Violari 2007*). Los pacientes del grupo están en un estadio clínico N e Inmunológico 1, de la clasificación de los CDC (**Apéndices 1 y 2**).
3. El tiempo de exposición a los antirretrovirales se asocia a un incremento de la toxicidad de los mismos, y en especial a la aparición del síndrome de lipodistrofia, presente en una tercera parte de los niños que reciben antirretrovirales. Por otro lado, poco se conoce sobre la toxicidad a largo plazo de un tratamiento iniciado en etapas tan precoces de la vida, teniendo en cuenta que se trata de pacientes que están en fase de crecimiento y desarrollo, y disponemos de algunos estudios que determinan que pueden existir efectos adversos a nivel cardiovascular (*Charakida 2005; McComsey 2007*).

Evolución clínica tras la IPT

La IPT se ha mostrado segura en el grupo de pacientes de estudio a nivel clínico, al no haberse registrado ningún episodio definitorio de SIDA ni fallecimiento durante la IPT. En 5 de los 6 pacientes, las complicaciones infecciosas fueron menores, y no con mayor frecuencia de las establecidas por la edad. Más aún, la incidencia de patologías comunes en la edad pediátrica entre los periodos preinterrupción y postinterrupción fue menor tras la IPT.

La paciente 3 desarrolló al año de la IPT una bacteriemia por meningococo no tipable, en el curso de una varicela. La varicela tiene un periodo de incubación de 10 a 21 días y es conocido el efecto deletéreo de los virus de la familia herpes sobre la inmunidad celular (descenso de los linfocitos CD4+ en la fase aguda de la varicela, *Lisse 2005*). Por ello, podríamos pensar que la paciente desarrolló la bacteriemia por meningococo facilitada por la inmunodepresión transitoria que le provocó el virus *Varicella zoster*. Los niños con infección por el VIH tienen un riesgo aumentado de varicela grave debido a un defecto en la inmunidad celular, aunque las formas complicadas de esta infección suelen acontecer en fases avanzadas de la infección (CD4+<15%). Nuestra paciente desarrolló una forma indolente de varicela, con afectación exclusivamente cutánea (cifra de CD4+ de 19% en el momento de la infección). Asimismo, la bacteriemia por meningococo cursó sin complicaciones, es decir no desarrolló una sepsis ni una meningitis. Por ello, y de acuerdo con la familia, se adoptó una actitud expectante respecto al reinicio de TARGA (de hecho, no cumplía criterios para reiniciarla), y la evolución posterior ha sido favorable: la paciente permanece en IPT 17 meses después de este episodio, con una cifra de CD4+ de 21% y 1155 células/mm³ en el último control y los procesos infecciosos que ha padecido posteriormente han sido una faringoamigdalitis y una infección respiratoria de vías altas. Por otra parte, cabe decir que el hecho de que las lesiones cutáneas de la varicela durasen menos de 7 días y que posteriormente la paciente no haya desarrollado un herpes zóster, son también indicativos de la capacidad de la paciente de desarrollar una respuesta inmune correcta frente a la infección.

Evolución virológica tras la IPT

La evolución de la CV tras la IPT en este grupo de pacientes es similar a la observada en el grupo de infección crónica: al mes de la IPT, se observa un rápido repunte de la CV que, posteriormente, tras activarse la respuesta inmune frente al VIH, desciende y se estabiliza. El repunte en los niños que estaban con CV indetectable antes de la IPT es mayor que el observado en los que tenían una replicación viral persistente antes de interrumpir el tratamiento. De hecho, el tratamiento intenso y precoz de la infección VIH por transmisión vertical puede dificultar el desarrollo de una respuesta inmune específica frente al virus (*Luzuriaga 2000*). Por ello, en los niños con supresión de la viremia con TARGA, al no poseer una memoria inmunológica frente al VIH, en cuanto se suspende el tratamiento ARV, el virus se multiplica libremente alcanzándose valores de CV elevados (4,8 , 5,7 y 4,6 log₁₀ copias/ml). A pesar de ello, los niveles finales de viremia son similares en ambos grupos de pacientes.

De forma similar al grupo de pacientes pediátricos con infección crónica, las cifras de carga viral (ARN-VIH) tras la IPT han sido inferiores a las registradas antes del inicio de TARGA. Tras un seguimiento de más de 3 años en IPT, la CV se ha mantenido estable, en valores inferiores a 5 log₁₀ copias/ml en 5 de los 6 pacientes (en valores comprendidos entre 3,8 y 4,9 log₁₀ copias/ml); el paciente 1 tenía en el último control 5,9 log₁₀ copias/ml. De hecho, en la historia natural de la infección VIH, la CV se estabiliza pasados los 2-4 años de edad en valores entre 4 y 5 log₁₀ copias/ml. Por lo tanto, los hallazgos son los esperados por la evolución natural de la infección. Cabe recordar que la CV es uno de los factores que influyen en el riesgo de desarrollar SIDA aunque la correlación es menor a la observada con la edad y el porcentaje de CD4+. Una carga viral con valores por encima de 5 log₁₀ copias/ml, duplica el riesgo de desarrollar SIDA (*Mofenson 1997*).

La seguridad de la IPT a nivel virológico viene condicionada por la posibilidad de que con el repunte de la replicación viral, el VIH desarrolle nuevas mutaciones genotípicas asociadas a resistencias a ARV que puedan reducir el arsenal terapéutico de los pacientes cuando deban reiniciar la TAR. En nuestra serie, no observamos nuevas mutaciones al mes de la IPT en los dos pacientes portadores de una cepa de VIH *wild-type* en el momento de la IPT (pacientes 2 y 3). En la paciente 1, la población predominante en el análisis genotípico tras la IPT fue *wild-type* o salvaje (sin resistencias), si bien previamente se habían detectado varias mutaciones. Este resultado no debe interpretarse como que la IPT consiguió revertir las mutaciones. La

subpoblación de virus con mutaciones suele tener menor capacidad replicativa que la salvaje, y al no estar expuesta a ARV, esta última replica a mayor velocidad. Dado que el análisis genotípico detecta las subpoblaciones virales que representan >20% del virus total, la cepa salvaje es la que se detecta en el análisis genotípico (Albrecht 2002). Los pacientes portadores de cepas con mutaciones tras la IPT (4, 5 y 6) eran pacientes que habían tenido dificultades en el control de la replicación viral y/o problemas de resistencias ya detectados durante TARGA. En los pacientes 5 y 6 se puede comparar el patrón de resistencias durante TARGA y tras la IPT: globalmente ambos patrones de resistencias son similares, con dos excepciones. En el paciente 5, existe un cambio en las mutaciones de la resistencia a los ITINN: se detecta tras la IPT la mutación K103N en vez de la mutación V106A. La explicación de este fenómeno es que el primer análisis genotípico se realizó a los 6 meses de TARGA (mutación V106A), y posteriormente el paciente siguió expuesto a nuevos ARV. Entre estos ARV, cabe destacar la combinación de ZDV y NVP, que favorece la emergencia de la mutación K103N (Richman 1994). Así pues, el VIH probablemente adquirió esta nueva mutación al estar sometido a presión simultánea con ZDV y NVP en los últimos dos años que precedieron a la IPT. En el paciente 6, el análisis realizado tras la IPT revela una nueva mutación frente a los ITIAN: la mutación K70R. Se trata de una mutación TAM (*thymidine analog mutation*) que se desarrolla de forma prácticamente predecible en aquellos pacientes expuestos a ZDV y/o d4T. En el curso del tratamiento, típicamente estas mutaciones TAM se van acumulando, y cronológicamente primero aparece la mutación T215Y, seguida de la D67N y posteriormente la K70R, siempre que el paciente siga expuesto a ZDV y/o d4T (Larder 1991). En nuestra paciente, el análisis genotípico se realizó a los 18 meses de iniciado el tratamiento ARV, pero posteriormente la paciente siguió expuesta a d4T durante un periodo de 2 años, durante el cual probablemente desarrolló la mutación K70R que se detectó tras la IPT.

Así pues, parecería que la IPT no motivó la aparición de nuevas mutaciones, lo que resulta fundamental para garantizar la seguridad virológica de esta estrategia. Estudios recientes (Ruiz 2007) demuestran que la IPT no se acompaña de nuevas resistencias a los ARV, siempre y cuando la suspensión de los fármacos ARV se lleve a cabo con las siguientes recomendaciones: simultánea para todos los fármacos antirretrovirales que componen la TARGA, excepto en aquellos pacientes tratados con ITINN (NVP o EFV) en los que dicho fármaco debe interrumpirse 14 días antes de suspender los nucleósidos. En nuestra población de estudio, la interrupción de los ARV se realizó siguiendo dichas recomendaciones.

Evolución inmunológica tras la IPT

○ ***Evolución de los linfocitos CD4+***

Tras la IPT, en todos los pacientes se ha observado una caída progresiva de la cifra de linfocitos CD4+. En este grupo de pacientes, lo interesante es poder determinar si el inicio de TARGA en la fase aguda de la infección ha modificado el curso natural de la infección VIH. Hemos visto que la evolución de la CV tras la IPT no difiere de la observada en el curso natural de la enfermedad. En los niños, la disminución del número de linfocitos CD4+ es un efecto combinado entre la progresión de la infección por el VIH y el descenso fisiológico asociado a la edad. En la historia natural de la enfermedad, entre los 6-8 años de edad, la disminución de linfocitos CD4+ es de aproximadamente 73 células/ml/año (*PENTA 1998*). Durante el seguimiento en IPT, los pacientes tenían entre 6 y 9 años, y la velocidad de descenso mediana ha sido de 120 células/ml/año (rango de 33 a 188 células/ml/año). De los 6 pacientes, dos (pacientes 3 y 4) claramente sufrieron un descenso inferior a lo esperado (33 células/ml/año), y siguen en IPT. Los pacientes 2 y 5 que han reiniciado la TARGA por inmunodepresión, tuvieron una caída de 188 y 99 células/ml/año, respectivamente. Hay que tener en cuenta que los datos de la historia natural de la enfermedad en el estudio PENTA (*PENTA 1998*) fueron recogidos de una población reducida de niños (n=40) y con una infección VIH que, en ausencia de TAR, era poco agresiva ya que todos los niños estaban asintomáticos o poco sintomáticos. Son, pues, pacientes seleccionados con una progresión natural lenta, y es posible que la cifra de descenso de los linfocitos CD4+ de 73 células/ml/año fuera mayor en una población no seleccionada.

De la misma forma que ocurría en el grupo de infección crónica, la caída de los CD4+ es bifásica, rápida en los primeros 3 meses de IPT (coincidiendo con el repunte de la CV) con respecto al periodo posterior (cuando se desarrolla la respuesta inmune que controla la replicación viral). Probablemente porque los pacientes de este grupo partían de unas cifras de linfocitos CD4+ más altas en el momento de la IPT, en ninguno ha sido necesario reintroducir la TARGA precozmente tras la IPT. De hecho, la reintroducción de la TARGA en dos pacientes por inmunodepresión ocurrió tras un largo periodo de tiempo en IPT (34 y 68 meses, respectivamente).

Por otra parte, la velocidad de descenso de los linfocitos CD4+, en su segunda fase (>4 meses tras la interrupción), se ha correlacionado con la cifra *nadir* de CD4+ (Ananworanich 2006; Maggiolo 2004; Pellegrin 2005). En nuestra serie, los resultados son concordantes: los pacientes 2 y 5 tuvieron las velocidades más altas de descenso de los CD4+ y a la vez las cifras *nadir* durante TARGA más bajas del grupo de estudio (del 14 y 13%, respectivamente). Ello nos debe alertar sobre la indicación de una IPT en paciente con nadires de CD4+ inferiores al 15%.

La rápida caída de los linfocitos CD4+ tras la IPT coincidiendo con el repunte de la CV es similar a la que se observa tras la infección aguda por el VIH (Guadalupe 2003) (Fig. 1.6), por el efecto citopático directo del VIH sobre los linfocitos CD4+. Asimismo, la estabilización ulterior de la CV y la caída más progresiva de los linfocitos CD4+ que hemos descrito previamente se asemejan también a la evolución natural de la infección. Por ello, podríamos pensar que la terapia TARGA introducida durante la infección aguda por transmisión vertical e interrumpida a los 24-36 meses conseguiría retrasar esta infección aguda a una etapa en la que el niño es menos vulnerable al VIH y el riesgo de progresión de la enfermedad es menor.

La IPT se ha mostrado segura a nivel inmunológico dado que, a pesar del descenso de la cifra de linfocitos CD4+ que se observa en todos los pacientes tras la IPT, ningún paciente ha pasado a la categoría inmunológica 3 de la clasificación de los CDC, que corresponde a pacientes con inmunodepresión grave (CD4+ <15% o <200 células/mm³) ni ha debido reiniciar precozmente TARGA.

○ **Evolución de las subpoblaciones linfocitarias**

La evolución de las subpoblaciones linfocitarias tras la IPT en este grupo de pacientes sigue una dinámica que puede considerarse fisiológica, al producirse un descenso predominante de las células *naïve*. Por una parte, con el inicio precoz de la TARGA, se frenó el efecto citopático del VIH sobre el timo (Douek 2003 (a)). Al mantenerse el correcto funcionamiento de este órgano, la subpoblación predominante al inicio de la IPT era la propia de los niños sanos, con un predominio de células *naïve* emergentes del timo (cifra mediana de células *naïve* al inicio de la IPT de 63% respecto al 23% de las células memoria). Por otra parte, tras la IPT, y con el repunte de la CV, se produce una hiperactivación del sistema inmune al estar expuesto

prácticamente *de novo* al VIH, y en este contexto, las células *naïve* se transforman en células memoria tras generar una respuesta inmune específica frente al VIH, a la vez que son destruidas por el VIH por este estado de hiperactivación que las hace más vulnerables al efecto citopático del virus (Douek 2002).

Pasados los 3 meses de la IPT, observamos cómo parte de estas células *naïve* se recuperan y se mantienen a lo largo del seguimiento, gracias a la presencia de un timo funcional, capaz de generar una reconstitución inmunológica (Mackall 1995; Hulstaert 1994), principal ventaja de la población pediátrica respecto a la población adulta.

- ***Evolución de la respuesta inmune específica***

Los niños tratados en la fase aguda de la infección VIH apenas muestran una producción de IFN- γ frente al antígeno p24. Este defecto en la respuesta inmune específica frente al VIH se cree debido al hecho de que el tratamiento precoz y potente con TARGA controla la viremia durante un periodo en el que existe una relativa inmadurez inmunológica que limita la generación de respuestas antivíricas específicas. (Luzuriaga 2000). En nuestro grupo de pacientes los resultados son concordantes con esta hipótesis. Durante TARGA, sólo un paciente presentó una respuesta positiva frente al antígeno p24. Dicho paciente estaba en fracaso virológico, es decir con una CV detectable que probablemente le sirvió de estímulo antigénico para generar la respuesta.

Tras la IPT, 4 de los 6 pacientes desarrollaron una respuesta positiva frente al antígeno p24, y ésta fue de gran intensidad. La presencia de una respuesta inmune específica intensa frente al VIH en los linfocitos CD4+ se ha asociado a un control eficaz de la primoinfección por VIH (Gloster 2004), y a una menor progresión de la infección crónica. A pesar de ello, de estos cuatro pacientes con respuesta positiva, dos debieron reiniciar TARGA por inmunodepresión progresiva (pacientes 2 y 5). Los dos pacientes que no desarrollaron una respuesta específica frente al VIH (pacientes 3 y 4), tenían en cambio una respuesta específica positiva frente al CMV. Dicha respuesta es indicativa de una buena función efectora de los linfocitos T memoria (French 2007, Rosemberg 2000). En otras palabras, estos pacientes tienen una inmunidad preservada, y no se justifica la falta de respuesta específica frente al VIH. Además, ambos pacientes siguen en IPT tras 29 y 61 meses, respectivamente. Es

posible que, al analizar solo la producción de IFN- γ y no la respuesta proliferativa de los linfocitos frente al antígeno p24, solo tengamos una visión parcial de la inmunidad específica frente al VIH (Scott 2003) que justifique estos resultados discordantes.

La intensificación de la respuesta inmune específica frente al VIH y una situación inmunológica preservada, podrían explicar el control de la replicación viral que se observa tras el repunte inicial de la carga viral, y en última instancia, la buena evolución que han tenido estos pacientes durante la IPT, caracterizada por un control de la replicación viral a niveles inferiores al periodo pre-TARGA y una lenta y progresiva inmunodepresión, sin clínica. No hemos podido observar una relación directa entre la CV (ARN-VIH), el tiempo en IPT, o la caída de los linfocitos CD4+ y la producción de IFN- γ ; no debemos olvidar el pequeño tamaño muestral, que sin duda limita nuestros resultados. Cabe pensar también que la evolución tras la IPT debe estar regulada por otros factores inmunológicos o virológicos, y no sólo por la respuesta inmune específica frente al VIH.

La capacidad y la intensidad de la respuesta frente al CMV que se observa en 5 de los 6 pacientes, refuerza la idea de que el grupo de pacientes tratados en fase aguda de la infección VIH son pacientes en los que la función inmune ha quedado preservada. La baja tasa de respuesta al resto de antígenos testados (candidina, toxoide tetánico y tuberculina), tanto durante TARGA como tras la IPT es asimismo sorprendente. En el caso de la candidina y el PPD, la falta de exposición a los antígenos atribuible a la corta edad de los pacientes y la no vacunación con BCG son posibles explicaciones. Sin embargo, en el caso del toxoide tetánico, todos los niños habían sido correctamente vacunados, y de hecho la mayoría de ellos mostraron anticuerpos positivos. Estos resultados son concordantes con datos recientes, en los que parece que los niños con infección VIH por transmisión vertical tienen respuestas humoral y celular discordantes frente al toxoide tetánico (Ching 2007). La explicación sería que las respuestas celulares específicas frente a aquellos antígenos prevalentes en el medio (por ejemplo CMV) se reconstituyen con TARGA, mientras que las respuestas frente a antígenos no prevalentes (por ejemplo el toxoide tetánico) no se reconstituyen (French 2007).

Evolución de los pacientes que reinician TARGA

El seguimiento de los pacientes que deben reiniciar TARGA tras la IPT es importante, porque una buena evolución tras la reintroducción del tratamiento también es un factor que confiere seguridad a la estrategia de la interrupción. Los 3 pacientes que reiniciaron TARGA tuvieron una respuesta inmunológica óptima: alcanzaron la cifra de 500 linfocitos CD4+ y/o del 25% al mes de reintroducir TARGA. A nivel virológico, la CV se hizo indetectable a menos de 50 copias/ml entre 3 y 4 meses de reiniciado el nuevo tratamiento, que fue en la mayoría de casos un régimen simplificado. Hasta la fecha, siguen asintomáticos, con recuentos normales de linfocitos CD4+ y control de la replicación viral (CV <50 copias/ml).

Reflexiones finales sobre la interrupción programada del tratamiento antirretroviral en niños con infección VIH aguda

En adultos, el diagnóstico de la infección VIH en la fase aguda es difícil y raramente es detectada en la práctica clínica. En niños, el seguimiento exhaustivo de los neonatos hijos de madres infectadas permite el diagnóstico precoz de la infección VIH en las primeras semanas de vida. La infección VIH aguda constituye una situación clínica única, con marcadas diferencias en la dinámica viral y la función inmune con respecto a la infección crónica. En la actualidad, todos los lactantes recién diagnosticados de infección VIH por transmisión vertical deberían iniciar TARGA, aún cuando esta posibilidad sólo es actualmente plausible en los países desarrollados. Una vez iniciado el tratamiento, las guías terapéuticas del VIH en niños, nacionales (*Fortuny 2008*), europeas (*Sharland 2004*) y americanas (Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection; disponible en <http://www.hivatis.org>.) recomiendan mantener la TARGA de por vida. Esta recomendación es sin duda beneficiosa para el niño, a corto y medio plazo al haberse demostrado unos beneficios sustanciales a nivel clínico e inmunológico con esta estrategia (*Luzuriaga 2004, Violari 2007*); sin embargo, no han podido determinarse sus consecuencias a largo plazo. Las ventajas indiscutibles del tratamiento en la primera época de la vida contrastan con las dificultades de mantener un buen cumplimiento del TARGA, en el que fracasan más de la mitad de los pacientes, y que acumula mutaciones que merman las opciones terapéuticas futuras. Además no debemos olvidar que el acceso a los nuevos tratamientos es mucho más complicado en la edad pediátrica, debido a la falta de datos de farmacocinética y a que muchos de los ARV no disponen de formulaciones adecuadas para los niños más pequeños. Por otro lado, los efectos secundarios descritos en pacientes pediátricos, y en especial la intolerancia gastrointestinal, tienen una gran repercusión en la efectividad del tratamiento. Preocupa también la alteración del metabolismo de los lípidos asociada a algunos ARV y el riesgo cardiovascular futuro que éste conlleva.

Los países con escasos recursos económicos son los que concentran el grueso de la infección VIH: el África Subsahariana es la región más afectada, donde residen el 68% de adultos y el 90% de niños infectados por el VIH a nivel mundial. Además, la previsión es que aumenten los casos de infección VIH pediátrica debido al aumento de

la incidencia de la infección VIH entre mujeres en edad fértil, que representan el 61% de los adultos que viven con el VIH (*WHO/UNAIDS 2007*). Recientemente, el estudio *CHER* (*Violari 2007*) ha demostrado que el tratamiento precoz (primeras 12 semanas de vida) en niños de zonas con recursos limitados (Sur-Africa), tiene un importante impacto sobre la mortalidad, en relación al tratamiento guiado por el porcentaje/recuento de linfocitos CD4+ y/o la clínica que hasta ahora recomienda la OMS. Este hecho ha determinado que actualmente estén en revisión las guías de este organismo y se hayan modificado las indicaciones de tratamiento en menores de 12 meses. En estos países, es difícil pensar que los niños puedan disponer de un tratamiento antirretroviral de por vida desde etapas tan precoces. En nuestro estudio, la IPT parece segura, en términos clínicos, virológicos e inmunológicos y ha permitido a 6 niños permanecer durante más de 3 años sin tratamiento. Además, los resultados sugieren que la TARGA precoz consigue posponer la infección aguda al momento de la IPT. Cabría entonces la posibilidad de tratar precozmente a los niños, cuando son especialmente vulnerables al efecto deletéreo de la infección VIH, y hasta los 24-36 meses de edad, cuando la IPT sería una estrategia válida. Esto pospondría el desarrollo de la infección aguda y entonces podrían aplicarse los criterios de inicio de TARGA del niño mayor en infección crónica (presencia de clínica y/o inmunodepresión por VIH).

La muestra reducida de pacientes de nuestro estudio no nos permite extraer conclusiones definitivas sobre la IPT como una estrategia segura en niños tratados en la fase aguda de la infección VIH de transmisión vertical, pero no podemos evitar estar esperanzados en base a estos resultados. Son necesarios ensayos clínicos randomizados al respecto, como los que ya se están llevando a cabo en África (*Violari 2007*).

B/ INTERRUPCIÓN PROGRAMADA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES TRATADOS EN INFECCIÓN CRÓNICA

El grupo de pacientes que vamos a analizar a continuación nacieron entre 1987 y 1998. Entonces, sólo se disponía de ARV de la familia de los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos, que permitían mono y biterapias subóptimas, y las indicaciones de tratar a los niños mayores de 12 meses asintomáticos para el VIH y sin inmunodepresión no estaban establecidas. Este grupo de pacientes difiere del grupo de infección aguda fundamentalmente porque el diagnóstico de la infección VIH y el inicio de tratamiento ARV fueron tardíos. Por ello, son pacientes que desarrollaron síntomas relacionados con la infección por VIH, y cierto grado de inmunodepresión. Dicha condición de deterioro clínico y/o inmunológico fue la que condicionó el iniciar TARGA meses o años después del diagnóstico. Se trata, pues, de una situación más parecida al diagnóstico y tratamiento de la población adulta. A diferencia del grupo A, la posibilidad de disponer de un grupo de comparación viene dada por el hecho de que en ese periodo, en España, se producían más casos de transmisión madre-hijo por año, siendo Cataluña una de las comunidades autónomas con un mayor número de casos.

En el año 2001, el fundamento de este estudio se basó en los resultados de varios estudios observacionales de cohortes realizados en adultos, que sugerían que la IPT podía ser una estrategia terapéutica segura en el contexto del tratamiento de la infección VIH crónica, especialmente en aquellos pacientes con una cifra normal de linfocitos CD4+ y supresión de la replicación viral (*Hirschel 2001; Lori 2001*), dado que muchos de ellos habían iniciado TARGA con el único criterio de tener carga viral elevada. Varios pacientes de la cohorte del Hospital Sant Joan de Deú habían iniciado TARGA en base a unos criterios inmunológicos y/o virológicos que en el año 2001 ya no eran considerados una indicación de tratamiento ARV. Además, varios de los padres de los pacientes, también infectados por el VIH, conocían la IPT como una nueva estrategia terapéutica o incluso habían sido incluidos en estudios que la evaluaban; de hecho, la decisión de los padres y/o del paciente fueron las principales motivaciones para la IPT del grupo de estudio (7 de los 12 pacientes). Algunos de los

pacientes, asimismo, asintomáticos, habían mostrado efectos secundarios o tóxicos a los ARV.

La estrategia utilizada en esta serie se incluye dentro de las interrupciones programadas guiadas por la evolución de los linfocitos CD4+. Aunque se analiza una muestra pequeña (n=12), hemos encontrado algunos resultados interesantes. Tres pacientes (25%) tuvieron que reiniciar el tratamiento ARV en los primeros 4 meses de la IPT debido a un descenso de los linfocitos CD4+ en dos, y al desarrollo de trombocitopenia en el tercero. El resto de pacientes ha permanecido estable durante un periodo de 30 meses en IPT, con una cifra de linfocitos CD4+ que se ha mantenido con recuentos superiores a 400 células/mm³. Estos resultados se aproximan a los observados en un estudio realizado en la Universidad Johns Hopkins (*Tarwater 2003*). En dicho estudio, se suspendió el tratamiento ARV a 105 pacientes adultos con cifras normales de linfocitos CD4+, que en su mayoría habían iniciado el tratamiento ARV en base a unos criterios inmunovirológicos que en el momento de iniciar el estudio ya no estaban vigentes (cifra de linfocitos CD4+ <500cél/mm³ o ARN-VIH>20.000 copias/mL). Los pacientes que reiniciaron el tratamiento ARV (n=45, 43%) lo hicieron todos precozmente tras la IPT, en los primeros 4 meses (media 2,7 meses), 26 (24%) de ellos por inmunodepresión (cifra de CD4+ <350 células/mm³). Además, dos pacientes desarrollaron una trombocitopenia asintomática. El resto de pacientes (57%) permanecía en IPT a los 28 meses de seguimiento y con una cifra media de linfocitos CD4+ de 500 células/mm³. El seguimiento en IPT de nuestro grupo de estudio ha sido más prolongado, de hasta 51 meses. En el periodo entre los 28 y los 51 meses (que no se analiza en el estudio del Johns Hopkins), otros dos pacientes han tenido que reiniciar el tratamiento ARV debido a un descenso en la cifra de linfocitos CD4+ hasta 174 células y 180 células/mm³ tras 33 y 43 meses, respectivamente. Otro estudio de IPT en adultos ha realizado un seguimiento hasta los 60 meses (*Fernández Guerrero 2005*). En dicho estudio, de los 46 pacientes que interrumpieron, 30 reiniciaron el tratamiento ARV (12 de ellos por descenso de los CD4+ por debajo de 300 células/mm³). En los primeros 8 meses, reiniciaron el tratamiento 8 pacientes, en el periodo entre los 9-27 meses, fueron 20 pacientes los que reiniciaron y sólo 2 pacientes durante el periodo de 28 a 60 meses. Los resultados son también similares en el sentido en que un número significativo de pacientes reinician precozmente el tratamiento ARV, y los que prosiguen en IPT, se mantienen estables durante meses e incluso más hasta los 3 años, antes de reiniciar TARGA, como en nuestra serie.

Evolución clínica tras la IPT

La IPT se ha mostrado segura en el grupo de pacientes de estudio a nivel clínico: no se ha producido en ningún paciente una progresión de la categoría clínica de los CDC, ni complicaciones infecciosas englobadas dentro de las categorías B o C de los CDC, ni fallecimiento alguno. Tampoco se ha producido ninguna complicación neoplásica, mucho menos frecuente en la infección VIH pediátrica. La seguridad de la IPT en infección crónica en la edad pediátrica a nivel clínico ha sido evaluada en 4 estudios retrospectivos de interrupciones no programadas por distintos motivos (Monpoux 2004; Ramos 2005; Gibb 2004; Saitoh 2008) (recogidos en la **Tabla V.19**) y los resultados son similares (ausencia de fallecimiento, de infecciones oportunistas o de eventos diagnósticos de SIDA) en los estudios de Monpoux y de Ramos. En cambio, sí se describen eventos diagnósticos de SIDA en relación a la IPT, 5 pacientes en el estudio de Gibb (2 linfomas, infección diseminada por micobacterias atípicas e infecciones bacterianas recurrentes) y 2 pacientes en el estudio de Saitoh (tuberculosis pulmonar y neumonía por *Pneumocystis jirovecii*). Cabe destacar que 6 de estos 7 pacientes estaban inmunodeprimidos en el momento de la interrupción (cifra de CD4+ <19%), ya que el motivo de la interrupción fue el fallo virológico. En nuestro estudio, una condición imprescindible para poder indicar la IPT era una normalidad a nivel inmunológico mantenida durante más de 2 años, con cifras de CD4+ ≥ 25%.

La paciente 3 desarrolló a los 2 meses de la IPT una púrpura trombocitopénica monosintomática (descenso de la cifra de plaquetas a 19.000/mm³). La paciente ya había presentado una púrpura trombocitopénica a la edad de 4 años, que fue el síntoma que llevó al diagnóstico de la infección por VIH, y que se resolvió al iniciar TARGA (cifra de plaquetas pre-IPT de 251.000/mm³ con carga viral indetectable). La recurrencia de la trombocitopenia tras la IPT ha sido previamente descrita (Ananworanich 2003) en tres pacientes adultos con cifras de plaquetas en el límite inferior de la normalidad al inicio de TARGA pero normales antes de la IPT. En los meses que siguieron a la IPT (1,4 y 3 meses respectivamente) los 3 pacientes desarrollaron una plaquetopenia con valores nadir de 13.000, 62.000 y 42.000 plaquetas/mm³ respectivamente, que sólo fue sintomática en el segundo paciente en forma de púrpura. La plaquetopenia relacionada con el VIH tiene un origen

multifactorial: 1) infección de los megacariocitos por el propio virus con una reducción en la producción de plaquetas, 2) destrucción periférica debido a la presencia de anticuerpos antiplaquetares IgG anti-gpIIIa (proteína similar a la proteína gp120 de superficie del VIH) o por inmunocomplejos circulantes. La trombocitopenia relacionada con el VIH puede presentarse en cualquier estadio de la infección, pero a menudo se asocia a una CV elevada, lo que concuerda con la situación de nuestra paciente: CV al diagnóstico de la infección VIH de $5,1 \log_{10}$, y a los 2 meses de la IPT, de $5,5 \log_{10}$. La trombocitopenia relacionada con el VIH suele recuperarse al introducir la terapia ARV y controlar la replicación viral. En nuestra paciente, a los 3 meses de reiniciar la TARGA, la cifra de plaquetas era de $108.000/\text{mm}^3$, con un control de la replicación viral (CV 109 copias/ml) y 3 meses después, la cifra de plaquetas ya superaba las $150.000/\text{mm}^3$ con una CV indetectable. Posteriormente la cifra de plaquetas se ha mantenido en valores dentro de la normalidad, con una CV permanentemente indetectable, manteniéndose así hasta la actualidad.

Todos los pacientes en IPT han desarrollado complicaciones infecciosas menores durante el seguimiento, siendo necesaria la hospitalización en 3 ocasiones (2 neumonías atípicas y un herpes zóster monometamérico). El objetivo de reunir un grupo control es reducir el sesgo que representan la edad y la propia infección VIH como factor de riesgo para padecer procesos infecciosos. La población pediátrica es más susceptible, en comparación con la adulta, a desarrollar infecciones y dicha susceptibilidad viene condicionada por la edad y la menor madurez del sistema inmunológico. Nuestra población de estudio (grupo B) son niños con edades comprendidas entre los 5,5 y los 17,5 años (mediana 14,5 años). El grupo de comparación utilizado son pacientes de edad similar infectados por el VIH, sin inmunodepresión, con una cifra mediana de linfocitos CD4+ de $659 \text{ células}/\text{mm}^3$, rango $314\text{-}1530 \text{ células}/\text{mm}^3$ (categoría clínica 1 de los CDC para 10/13 pacientes, y categoría 2 para 3/13 pacientes, con cifras de CD4+ $>300 \text{ células}/\text{mm}^3$) en todos los casos. Al comparar el grupo de estudio (grupo B en IPT) con el grupo C, observamos que las tasas de incidencia tanto de enfermedades comunes de la infancia como de hospitalizaciones son similares entre ambos grupos, sin hallarse diferencias estadísticamente significativas. En otras palabras, la IPT no parece aumentar el riesgo de padecer complicaciones infecciosas en el grupo de pacientes analizado.

Tras la IPT, no se ha producido ningún caso de síndrome retroviral agudo (SRA). Se trata de un cuadro clínico con sintomatología similar a la de la primoinfección por VIH, que suele acontecer en las primeras 6 semanas tras la IPT, coincidiendo con una marcada elevación de la CV, y en ocasiones con un descenso del recuento de linfocitos CD4+. Se caracteriza por fiebre, fatiga, faringitis, adenopatías, rash cutáneo, y a menudo pérdida de peso. Tras el reinicio de los ARV, el cuadro clínico rápidamente se resuelve, coincidiendo con la resupresión de la CV. En la edad pediátrica, el SRA es excepcional en la infección VIH de transmisión vertical mientras que hasta un 50% de los adultos pueden desarrollarlo, con más frecuencia si la primoinfección VIH es por vía sexual que por vía intravenosa. Tras la IPT, el SRA en adultos ocurre sólo de forma ocasional. En la edad pediátrica, existe un único caso descrito en la literatura de SRA tras la interrupción del tratamiento ARV en una paciente adolescente con infección vertical por VIH-1. (*Friman 2007*). Por ello, dada la excepcionalidad del SRA tras la IPT y más aún en la edad pediátrica, es comprensible que no hayamos detectado ningún caso de SRA en nuestra población de estudio a pesar del marcado repunte de la CV.

Evolución virológica tras la IPT

Los pacientes que interrumpen el tratamiento ARV habitualmente presentan un rápido repunte de la carga viral. La carga viral se hace detectable entre las 2 y las 4 semanas que siguen a la interrupción, desciende a un nuevo *set-point* y finalmente se estabiliza. La IPT en niños parece ir acompañada de un mayor incremento de la carga viral en comparación a la que presenta la población adulta.

En nuestro grupo de estudio, el incremento mediano de la CV a las 4 semanas de la IPT (de 1,7 a 4,7 \log_{10} copias/ml) fue mayor al repunte descrito en la población adulta (*SMART 2006; Skiest 2007; Danel 2006; Ananvoranich 2006*) y al de la población pediátrica (*Monpoux 2004; Ramos 2005; Saitoh 2008*). Respecto a los adultos, el peor control de la CV tras la IPT en la edad pediátrica se atribuye a la inmadurez de la respuesta inmune específica frente al VIH que viene condicionada por la edad (*Scott 2003*). Respecto a los estudios pediátricos, las diferencias observadas pueden explicarse porque la mayoría de los pacientes incluidos en dichos estudios no tenían

un control de la replicación viral antes de la IPT, como es el caso de nuestra población de estudio. Además, la ausencia prolongada del estímulo inmunológico que supone una replicación viral mantenida, ausente en nuestros pacientes (tiempo mediano de CV controlada de 56 meses), ha mermado la respuesta inmune específica frente al VIH, que es la responsable del control de la replicación viral tras la IPT (*Alatrakchi 2005*).

De forma interesante, las cifras de carga viral tras la IPT han sido inferiores a las registradas antes del inicio de TARGA. En efecto, originalmente las interrupciones del TAR se basaron en la hipótesis de que al provocar un repunte de la carga viral estimularían la respuesta inmune específica frente al VIH, tratándose pues de una forma de “autoinmunización terapéutica”. Por ello las interrupciones del TAR se consideraron como una terapia de base inmune con el objetivo de controlar al menos parcialmente la replicación viral una vez la TARGA se suspende (*García 2001*).

La seguridad de la IPT a nivel virológico viene condicionada al hecho de que tras el repunte de la replicación viral, el VIH no desarrolle nuevas mutaciones que puedan reducir la sensibilidad a los ARV y el arsenal terapéutico de los pacientes cuando deban reiniciar la TAR. En nuestro grupo de estudio, no observamos nuevas mutaciones al mes de la IPT. Para asegurar el éxito en este aspecto, es importante que la interrupción del tratamiento se lleve a cabo de forma simultánea para todos los fármacos antirretrovirales que componen la TARGA, excepto en aquellos pacientes tratados con inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (nevirapina o efavirenz) en los que dicho fármaco debe interrumpirse 14 días antes de interrumpir el resto (*Ruiz 2007*). Una estrategia similar en la forma de suspender el tratamiento en los pacientes tratados con inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (7 y 14 días para nevirapina y efavirenz, respectivamente) evitó el desarrollo de resistencias genotípicas tras la IPT en niños con supresión de la replicación viral en un subestudio del ensayo PENTA 11 (*Lallemant 2006*).

Tabla V.19. Estudios sobre interrupción del tratamiento antirretroviral guiada por la cifra de linfocitos CD4+ en población pediátrica con infección crónica por VIH.

	Población de estudio	Motivo IPT	Edad media IPT (años)	Duración IPT (meses)	Eventos clínicos definitorios de SIDA o muerte	Descenso linfocitos CD4 ⁺	Blip de CV al mes de IPT (log ₁₀ copias/ml)	Reinicio TARGA (n° pacientes)
MONPOUX Francia Retrospectivo	n=24 Categoría C: n=5 CD4<15%: n=4	FV: n=10 SR*: n=14	10 años (2,1-17,3 años)	10 meses (2-42,5 meses)	no	-45 céls/mm ³ por mes	+1,26	n=10 (41%) (7 FV, 3 SR)
RAMOS España Retrospectivo	n=24 Categoría C: n=3 CD4<15%: n=8	SO: n=15 RA: n=1 SR ^{&} : n=8	9,5 años (4-20 años)	13 meses (2-52 meses)	no	-114 céls/mm ³ y -3,6% por mes (primeros 3 meses)	+0,86	n=4 (16%)
GIBB Reino Unido Retrospectivo	n=71 Categoría C: n=31 CD4<15%: n=16	FV=17 AD=19 RA=7 SR=19	7 años (0,7-17,7 años)	4,1 meses (2,3-7,6 meses)	en 5 pacientes (linfoma B, MAI, inf. bacteriana recurrente) (CD4 al dx<10%)	-10,4 céls/mm ³ y -0,52% por mes	ND	n=48 (67%)
SAITOH EUA Retrospectivo	n=72 Categoría C: n=3 CD4<15%: n=8	SR: n=50 AD: n=16 RA: n=14	12,8 años (9,2-17,2 años)	15,9 meses (3-56 meses)	En 2 pacientes (tuberculosis pulmonar, neumonía <i>Pneumocystis</i>)	-43,2 céls/mm ³ y mes	+0,55	n=48 (66%)
ALSINA España Prospectivo	n=12 Categoría C: n=2 CD4<15%: n=0	SR [#] : n=12	11,2 años (5,5-17,2 años)	39 meses (24-51 meses)	no	-14 céls/mm ³ y -0,44% por mes	+3	n=6 (50%)

FV: fracaso virológico; SR: *sparing regimen* o pauta de reducción de exposición a ARV atendiendo a su toxicidad; SO: tratamiento antirretroviral sub-óptimo; AD: problemas adherencia; RA: reacción adversa ARV. ND: no descrita *: CD4 basales ≥25%, CV indetectable>6 meses. &: CD4 basales ≥20%, CV indetectable>2 años. #: CD4 basales ≥25% y CV indetectable> 2 años

Evolución inmunológica tras la IPT

○ Evolución de los linfocitos CD4+

Tras la IPT, se produce un descenso bifásico de los linfocitos CD4+: rápido en las primeras 8-12 semanas tras la IPT, que ha sido atribuido a una redistribución de los linfocitos hacia los tejidos, seguida de una caída más lenta pero progresiva durante los meses siguientes (*García 2001, Thiebaut 2005*). Pasados los 4 meses de la IPT, suelen alcanzarse los valores basales previos a la suspensión del tratamiento (*Tebas 2002; Fernández-Guerrero 2005*). En nuestro grupo de estudio, los resultados son concordantes con dichas observaciones: la caída del porcentaje de linfocitos CD4+ fue más rápida en los primeros 3 meses de la IPT con respecto al periodo posterior (valores medios de descenso: -3%/mes en los primeros 3 meses *versus* -0,06% /mes posteriormente; $p < 0,0001$).

La lenta velocidad de descenso en el porcentaje de CD4+ a partir de los 4 meses de la IPT (valor mediano: -0.06% por mes) es un hallazgo notable que probablemente sea indicativo de una función inmune preservada. Ésta actúa a través de una fuerte respuesta linfocitaria citotóxica frente al VIH (*Buseyne 2005 (b)*), que permite un control parcial de la replicación viral reduciendo así el efecto citopático del VIH sobre los CD4+, y también gracias a la repoblación continua de los linfocitos CD4+ por el timo. El timo es un órgano del sistema inmune propio de la edad pediátrica, que contribuye a la repoblación de los linfocitos y a su homeostasis: a menor cifra de CD4+, mayor es la actividad del timo para producir los linfocitos (*De Rossi 2002*). Incluso se observó un incremento en el porcentaje de linfocitos CD4+ a partir de los tres meses de la IPT en los pacientes 1 y 2.

La velocidad de descenso global de la cifra absoluta de linfocitos CD4+ y su porcentaje durante la IPT fue -14 céls/mm³ y -0,44% por mes, similares a las observadas en otros estudios, tanto pediátricos (-10 céls/ mm³ y -0,52%/mes (*Gibb 2004*) y -6,2%/año o un 33% global (*Monpoux 2004*)) como en población adulta. En el estudio de Gibb, se observó una variación considerable en la velocidad de descenso de la cifra de CD4+ entre los diferentes niños, sin poder hallarse una relación estadísticamente significativa entre el porcentaje de CD4+ pre-TARGA o el estadio clínico, ni ningún otro factor que permitiera predecir la evolución inmunológica de los pacientes tras la IPT.

Por el contrario, en adultos sí han podido establecerse factores predictores de la caída de la cifra de CD4+ tras la IPT en pacientes con infección crónica por el VIH, siendo el incremento de la cifra de CD4+ durante TARGA el principal: aquellos pacientes con un mayor aumento de los CD4+ al iniciar TARGA tendrán caídas más intensas de los linfocitos CD4+ tras interrumpir el tratamiento (Tebas 2002). Por otra parte, en la segunda fase de la caída de los linfocitos CD4+ (>3-4 meses tras la interrupción), será el *nadir* de CD4+ (cifra más baja jamás detectada) el predictor más importante del descenso progresivo de los mismos (Ananworanich 2006; Maggiolo 2004; Pellegrini 2005). Así, los pacientes que tuvieron cifras más bajas de CD4+ deben reiniciar el TAR en una mayor proporción y tras un periodo de tiempo más corto después la interrupción en comparación con aquellos pacientes con *nadires* de CD4+ más elevados. El único estudio pediátrico que ha evaluado los factores predictores de la caída de los CD4+ tras la IPT es el estudio de Saitoh (Saitoh 2008): sobre una muestra de 72 pacientes pediátricos con una interrupción no programada del tratamiento ARV de 15 meses de media, observaron que la cifra de CD4+ pre-interrupción no predecía la caída de los CD4+ tras la interrupción. En cambio, el incremento del porcentaje de CD4+ durante el tratamiento ARV desde la cifra *nadir* hasta la cifra previa a la interrupción sí que predecía la caída del porcentaje de CD4+ tras la interrupción. En nuestra población de estudio, los resultados son concordantes con esta última observación: las tres pacientes (3,10 y 12) que tuvieron caídas más intensas y precoces de los CD4+ tras la interrupción del tratamiento tenían las cifras *nadires* de CD4+ más bajas de todo el grupo y dichas cifras coincidían con las basales al inicio de TARGA. Tras iniciar la TARGA, estas tres pacientes fueron las que presentaron el incremento mayor de la cifra de CD4+ (paciente 3: de 16% a 44%; paciente 10: de 9% a 36%; paciente 12: de 3% a 30%, en comparación con el resto del grupo, que con la TARGA pasó de una cifra mediana de 22% a 32%) (ver **Tabla IV.15**). En cuanto a los dos pacientes que reiniciaron TARGA debido a una inmunodepresión progresiva pasados los 30 meses de IPT, sus cifras *nadires* de CD4+ eran comparables a las del resto de pacientes que permanecen en IPT (21% en ambos pacientes).

En base a estos resultados, es importante subrayar que los pacientes pediátricos con cifras de linfocitos CD4+ *nadir* <15% (Categoría Immunológica 3 de los CDC) no serían tributarios de una IPT por el riesgo elevado de inmunodepresión grave poco después de la suspensión del TAR, independientemente de que con TARGA hayan presentado una reconstitución inmune que haya normalizado las cifras de CD4+.

○ **Evolución de las subpoblaciones linfocitarias**

Durante la IPT, se observa un descenso progresivo que afecta por igual a ambas subpoblaciones de linfocitos CD4+: descenso de 0.07%/mes para los linfocitos CD45RA⁺ y de 0.06%/mes para los CD45RO⁺. Dichos resultados son concordantes con los observados en IPT en población adulta (*Nemes 2006*). En la población no infectada por el VIH, con la edad se asiste a un descenso de los linfocitos naïve (que representan el 90% de los linfocitos totales en neonatos, el 80% en pre-escolares, el 65% en escolares y el 40% en adultos) mientras que la cifra absoluta de linfocitos memoria se mantiene bastante estable en todas las edades (*Hulstaert 1998*).

El descenso de la subpoblación de células naïve CD45RA⁺ (linfocitos emergentes del timo) puede explicarse, además de por la propia evolución natural, porque el VIH es capaz de infectar a los timocitos y al epitelio tímico, y la infección resulta en un daño en el parénquima y en su involución (*Douek 2003 (a)*). El timo expresa altos niveles de CXCR4, que es el co-receptor necesario para la entrada celular de las cepas de VIH X4, que son altamente citopáticas (*Ye P 2004*). El descenso de la subpoblación de células memoria CD45RO⁺ puede explicarse porque entre los CD4⁺, la subpoblación más afectada por el VIH es la de las células memoria, que constituyen el principal reservorio del virus. Las células naïve también se infectan, pero en menor medida (*Brenchley 2004*). La relevancia de este hecho es que la memoria inmunológica incluye la respuesta inmune específica frente al VIH, y al ser destruida, podría justificarse la enorme dificultad en controlar la replicación viral (*Douek 2002*).

○ **Evolución de la respuesta inmune específica**

El interés de evaluar la respuesta inmune específica de los CD4⁺ frente al VIH en nuestro estudio viene determinado por el hecho de que la respuesta inmune mediada por linfocitos CD4⁺ juega un papel crítico en el control de la replicación viral. A menor replicación viral, menor destrucción de linfocitos CD4⁺, y menor riesgo de complicaciones infecciosas por inmunodepresión. De hallarse una relación entre cierto nivel de respuesta CD4 específica y mejor control de la replicación viral, y un menor descenso de los CD4⁺, éste podría ser un marcador que ayudase a establecer cuales son los pacientes de menor riesgo tras la IPT.

En adultos, la estrategia de interrupción del tratamiento ARV ciclada por tiempo, en la que existe un periodo de tiempo prefijado sin tratamiento (semanas habitualmente), surgió con la hipótesis de que esta estrategia podría potenciar la respuesta inmune específica frente al VIH, y controlar así la replicación viral de forma sostenida sin necesidad de ARV (Ruiz 2000; Fagard 2003; Plana 2004). Por desgracia los resultados han sido desalentadores en adultos con infección crónica por el VIH sometidos a interrupciones cíclicas: se observa que, si bien existe inicialmente una potenciación de la respuesta específica de los CD4+ que es capaz de controlar la replicación viral, al cabo del tiempo (6-12 meses) ésta disminuye y la carga viral se dispara. En niños, existe un único estudio (Borkowsky 2006), que evalúe la respuesta inmune específica de los CD4+ en un grupo de 14 pacientes con control completo de la replicación viral durante más de 1 año que realizan IPT cicladas por tiempo, con ciclos iniciales de 3 días que se incrementan en 2 días a cada nuevo ciclo. Se observa un incremento progresivo de la producción de IFN- γ VIH-específica con las sucesivas IPT, y paralelamente, un descenso de la replicación viral. Debemos mencionar, sin embargo, que el análisis es sobre un corto periodo de tiempo (ciclo más largo de IPT de 27 días) y que esta estrategia conlleva, en algunos pacientes, el desarrollo de nuevas mutaciones asociadas a resistencia a ARV.

En nuestro estudio, se evalúa la respuesta inmune específica de los CD4+ tras una IPT continua y prolongada. Se observa que la intensidad de la respuesta inmune específica frente al antígeno p24 del VIH en los pacientes interrumpidos respecto a los no interrumpidos es significativamente mayor (Mann-Whitney test, $p=0.012$), lo que obedece a un mayor estímulo antigénico al replicarse el VIH de forma activa. La capacidad de generar una respuesta inmune específica intensa frente al VIH puede explicar parcialmente la buena evolución de nuestros pacientes tras la IPT (replicación viral estable tras el repunte inicial y lenta inmunodepresión a lo largo de meses), aunque no disponemos del análisis de los pacientes que tuvieron que reiniciar TARGA rápidamente. A destacar que dos pacientes (6 y 11) no presentan una respuesta inmune específica y a pesar de ello, persisten en IPT con una CV de 4,5 y 4,6 \log_{10} y una cifra de CD4+ del 24 y el 31% respectivamente. Además, no hemos hallado un relación entre la CV (ARN-VIH), el tiempo en IPT, o la caída de los linfocitos CD4+ y la producción de IFN- γ . Probablemente la evolución inmunológica tras la IPT esté regulada por otros factores inmunológicos o virológicos, y no sólo por la respuesta inmune específica frente al VIH.

Evolución de los pacientes que reinician TARGA

El seguimiento de los seis pacientes que deben reiniciar TARGA tras la IPT es importante, porque una buena evolución tras la reintroducción del tratamiento también es un factor que confiere seguridad a dicha estrategia. Es decir, si efectivamente tras la IPT se produce una inmunodepresión, pero tras reiniciar TARGA el periodo hasta que el paciente recupera su cifra de CD4+ es corto, el riesgo es menor. En este sentido, la población pediátrica parte con ventaja respecto a la adulta por su capacidad de reconstitución inmunológica, dado que el timo se mantiene funcional durante la infancia (*Mackall 1995; Hulstaert 1998*). En los niños, la repoblación de los linfocitos CD4+ se produce principalmente con células T *naïve* CD45RA que proceden del timo (*Gibb 2000, De Rossi 2002*). Y a mayor depleción de linfocitos CD4+, mayor es el rendimiento del timo. Más aún, dicha repoblación puede aparecer incluso en ausencia de control de la replicación viral y en fases avanzadas de la enfermedad (*Kovacs 2005*). De los 5 pacientes que reiniciaron TARGA por inmunodepresión durante la IPT (se excluye a la paciente 2), cuatro pacientes tuvieron una rápida respuesta inmunológica, recuperando la cifra de linfocitos CD4+ (≥ 500 células/mm³ y/o $\geq 25\%$) en los primeros 4 meses después de reiniciar los ARV.

A nivel virológico, otro elemento de la seguridad de la IPT, es poder asegurar una respuesta virológica óptima tras la IPT con regímenes terapéuticos de primera línea, como ocurrió en todos los casos (CV indetectable entre 4 semanas y 6 meses de reiniciado el nuevo régimen TARGA, que fue en la mayoría de casos un régimen simplificado).

Reflexiones finales sobre la interrupción programada del tratamiento antirretroviral en niños con infección VIH crónica

En adultos, la opción de la IPT para el tratamiento de la infección crónica por VIH ha sido desechada debido a los resultados recientes del ensayo clínico SMART (*SMART 2006*). En dicho estudio, 5400 pacientes con infección crónica por VIH fueron randomizados a recibir una terapia ARV continua o a una IPT (si CD4+ >350 células/mm³). El reinicio de TARGA se indicaba si la cifra de CD4+ descendía por debajo de 250 células/mm³. El ensayo fue suspendido prematuramente tras un análisis intermedio a los 16 meses de seguimiento, en el que se observó que el grupo interrumpido tenía un riesgo aumentado de infecciones oportunistas o muerte por cualquier causa (riesgo relativo de 2,6) y de enfermedades cardiovasculares, renales o hepáticas (riesgo relativo de 1,7). Hay algunas consideraciones que debemos tener en cuenta al analizar estos resultados: primera, una parte importante de la población en estudio estaba gravemente inmunodeprimida antes de iniciar la TARGA; segundo, la edad en sí misma es un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, renales y hepáticas (infarto de miocardio, accidente vascular cerebral, enfermedad coronaria, insuficiencia renal y cirrosis) que ocurren sólo excepcionalmente en la edad pediátrica; y tercero, la mayoría de las defunciones registradas no pueden ser atribuidas al VIH (cáncer no relacionado con infecciones oportunistas, enfermedad cardiovascular, abuso de sustancias, violencia o suicidio) y sólo el 8% de las defunciones fueron provocadas por infecciones oportunistas. A pesar de estos resultados, algunos expertos aún piensan que la IPT tiene su papel en ciertas circunstancias (por ejemplo en la infección aguda por VIH, mujeres embarazadas que reciben TARGA sólo para prevenir la transmisión vertical del VIH, o la IPT durante cortos periodos de tiempo en pacientes con infección crónica por el VIH) (*Currier 2006*).

En nuestra población de estudio, utilizamos criterios de inclusión muy estrictos para que la IPT supusiera un mínimo riesgo a los pacientes. En primer lugar, debían estar con un régimen TARGA de primera línea; así, queda asegurada una amplia variedad de opciones terapéuticas en caso de fracasar la IPT. En segundo lugar, era imprescindible un mínimo de 2 años de carga viral indetectable y de cifras normales de linfocitos CD4+. Con ello, no sólo se aseguraba una máxima estabilidad inmunológica al inicio de la IPT, sino que además es una forma indirecta de seleccionar a un grupo de pacientes cumplidores con el tratamiento y con el seguimiento. En nuestro grupo,

los pacientes habían permanecido una media de casi 5 años con control de la replicación viral. Por último, el reinicio de TARGA se preveía si la cifra de CD4+ descendía por debajo de 350 células/mm³ o del 17%. La cifra de linfocitos CD4+ es el factor con el que mejor se ha establecido el riesgo de progresión a SIDA. En todas las edades, el riesgo es especialmente alto cuando desciende por debajo del 15-20%. En el ensayo SMART, el riesgo relativo para desarrollar infecciones oportunistas o fallecer se redujo después de ajustar los resultados a valores más conservadores de linfocitos CD4+ y de carga viral en IPT. Ello indica que probablemente el riesgo aumentado de complicaciones oportunistas tuvo que ver con el hecho de que se reiniciaba la TARGA sólo si la cifra de CD4+ era inferior a 250 células/mm³, que es un grado mayor de inmunodepresión que el establecido en nuestro estudio. Utilizar umbrales de CD4+ más altos, como en nuestro estudio, probablemente aumente la seguridad de las IPT, tal y como han demostrado otros ensayos clínicos recientemente publicados (*Ananworanich 2006; Maggiolo 2004; Cardillo 2005, Ruiz 2007*).

En la edad pediátrica, el interés por la IPT en el tratamiento de la infección crónica por el VIH sigue vigente, especialmente en los países con escasos recursos económicos que son los que concentran el mayor número de pacientes, y donde la accesibilidad a los tratamientos combinados es difícil. El poder reducir el consumo de ARV, siempre desde la premisa de no poner en riesgo a los niños, está impulsando la realización de ensayos pediátricos que evalúen la seguridad de la IPT en contextos clínicos diferentes al nuestro. Ejemplo de ello es el estudio BANA-2, que se está llevando a cabo en Botswana (*Lowenthal 2006*). Se trata de un ensayo randomizado en el que se comparan la terapia TARGA continua *versus* intermitente, en niños entre 6 meses y 13 años con infección VIH. A destacar que casi el 50% de los niños enrolados estaba gravemente inmunodeprimido (categoría 3 de los CDC). Los criterios para la IPT son: haber permanecido un mínimo de 6 meses en TARGA y mantener un estadio inmunológico 1 un mínimo de 3 meses. Los pacientes reinician la TARGA si el porcentaje de CD4+ desciende por debajo del 25%. Si posteriormente recuperan el estadio inmune a la categoría 1 por 3 meses, volverán a ser interrumpidos. El objetivo es poder recoger 300 niños en cada brazo terapéutico. En Diciembre de 2005, un total de 44 niños habían sido interrumpidos, por una duración máxima de 14 meses. La enfermedad VIH no progresó durante la IPT, y tras el reinicio de TARGA, todos los pacientes habían conseguido suprimir la replicación viral de nuevo. Estos resultados son por ahora alentadores.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio deben ser tomados con cautela, debido al reducido número de pacientes incluidos y por no tratarse de un ensayo randomizado. Además, los criterios de inclusión tan restrictivos limitan las conclusiones a una población muy seleccionada de pacientes pediátricos con infección crónica por el VIH. No obstante, la relevancia de nuestros datos viene dada por la falta de información y estudios sobre IPT en pacientes pediátricos. Las diferentes características de la infección VIH en la edad pediátrica, determinan que no puedan extrapolarse los resultados obtenidos en estudios realizados en población adulta a este grupo de pacientes. En nuestra experiencia, la IPT se ha mostrado segura a nivel clínico y virológico, si bien a nivel inmunológico los pacientes en IPT desarrollan inmunodepresión, que ha sido el motivo de reiniciar la terapia ARV en 5 de los 6 pacientes que reiniciaron el tratamiento del grupo de 12 pacientes analizados. En caso de IPT, es necesario un seguimiento clínico-analítico estricto (mensual al inicio, y cada 2-3 meses después). Por ahora y en espera de nuevos resultados, la IPT en niños solo debería plantearse como una opción terapéutica en una población muy seleccionada de pacientes (sin inmunodepresión grave) y, preferentemente, en el contexto de ensayos clínicos.

Capítulo VI

Conclusiones

Las conclusiones son comunes para ambos grupos en estudio: grupo A, pacientes tratados durante el periodo de infección aguda: y grupo B, pacientes tratados durante la infección crónica.

1) CLÍNICAS

En nuestra serie, la IPT se ha mostrado segura a nivel clínico: no se han detectado eventos clínicos diagnósticos de SIDA ni mortalidad, ni tampoco una mayor densidad de incidencia en los eventos clínicos menores tras la IPT, al compararlos con los grupos control respectivos.

2) VIROLÓGICAS

2a) A las 2-4 semanas de la IPT, hemos objetivado un repunte de la carga viral, que posteriormente desciende a un nuevo *set-point* y finalmente se estabiliza en valores no superiores a los registrados antes de iniciar el tratamiento antirretroviral.

2b) En el análisis genotípico no hemos detectado la emergencia de mutaciones asociadas a resistencia a los antirretrovirales atribuibles a la IPT.

3) INMUNOLÓGICAS

3a) Tras la IPT se produce en todos los pacientes un descenso significativo de la cifra de linfocitos CD4+, en valor absoluto y porcentual, que es bifásico: rápido en los primeros tres meses, y más lento posteriormente.

3b) En pacientes tratados durante la infección aguda, la velocidad de descenso de la cifra de linfocitos CD4+ pasados los primeros 4 meses de la IPT es mayor en los pacientes con cifras *nadir* de CD4+ más bajas (<15%), aunque dichas diferencias no son estadísticamente significativas. En pacientes tratados durante la infección crónica, el principal predictor de la caída de los linfocitos CD4+ inmediatamente tras la IPT es la cifra *nadir* de linfocitos CD4+ y el incremento de la cifra de linfocitos CD4+ durante la TARGA.

3c) En pacientes tratados durante la infección aguda, la evolución de las subpoblaciones linfocitarias tras la IPT sigue una dinámica más fisiológica de acuerdo con su edad, observándose un descenso predominante de la población de células *naïve*. En pacientes tratados durante la infección crónica, tras la IPT se observa un descenso progresivo que afecta por igual a ambas subpoblaciones de linfocitos CD4+, memoria y *naïve*.

3d) La IPT es capaz de potenciar la respuesta inmune específica frente al VIH (producción de IFN- γ por los linfocitos CD4+ estimulados con el antígeno p24 del VIH), aunque no se ha podido establecer una relación entre la intensidad de la respuesta inmune específica frente al VIH y la replicación viral, el tiempo libre de inmunodepresión o la velocidad de descenso de la cifra de linfocitos CD4+ tras la IPT.

Aboulker JP, Babiker A, Chaix ML, et al. Highly active antiretroviral therapy started in infants under 3 months of age: 72-week follow-up for CD4 cell count, viral load and drug resistance outcome. *AIDS* 2004;18:237-45.

Abrams EJ, Weedon J, et al. Association of human immunodeficiency virus (HIV) load early in life with disease progression among HIV-infected infants. *J Infect Dis* 1998;178:101-8.

Alatrakchi N, Duvivier C, Costagliola D et al. Persistent low viral load on antiretroviral therapy is associated with T cell-mediated control of HIV replication. *AIDS* 2005;19:25-33.

Albrecht D, Zöllner B, Feucht HH, et al. Reappearance of HIV multidrug-resistance in plasma and circulating lymphocytes after reintroduction of antiretroviral therapy. *J Clin Virol* 2002;24:93-8

Alimonti JB, Blake Ball T, Fowke KR. Mechanisms of CD4+ T Lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *J Gen Virol* 2003;84:1649-61.

Alter G, Teigen N, Ahern R et al. Evolution of innate and adaptive effector cell functions during acute HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2007;195:1452-60.

Ananworanich J, Phanuphak N, Nuesch R, et al. Recurring thrombocytopenia associated with structured treatment interruption in patients with HIV infection. *CID* 2003;37:723-5.

Ananworanich J, Gayet-Ageron A, Le Braz M, et al.; Staccato Study Group; Swiss HIV Cohort Study. CD4-guided scheduled treatment interruptions compared with continuous therapy for patients infected with HIV-1: results of the Staccato randomised trial. *Lancet*. 2006;368:459-65.

Barnhart HI, Caldwell MB, Thomas P, Mascola L et al. Natural history of human Immunodeficiency virus disease in perinatally infected children: an analysis from the pediatric spectrum disease project. *Pediatrics* 1996;97:710-716.

Barret B, Tardieu M, Rustin P, Lacroix C, Chabrol B, Desguerre I, et al; for the French Perinatal Cohort Study Group. Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants: clinical screening in a large prospective cohort. *AIDS*. 2003;17:1769-85.

Blanche S, Newell M, Mayaux M, at al. Morbidity and mortality in European children vertically infected by HIV-1: The French Prospective Study and the European Collaborative Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1997;14:442-50.

Blankson JN, Persaud D, Siliciano RF. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu Rev Med*. 2002;53:557-93.

Blattner W. WITS study, 1990-1999. XIII AIDS Conf, July 2000, Durban S Africa (LBO4).

Bongiovanni M, Casana M, Tincati C, d'Arminio Monforte A. Treatment interruptions in HIV-infected subjects. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:502-5.

Boritz E, Palmer BE, et al. Diverse repertoire of HIV-1 p24-specific, IFN-gamma-producing CD4+ T cell clones following immune reconstitution on highly active antiretroviral therapy. *J Immunol*. 2003 ;170:1106-16.

Borkowsky W, McFarland E, Yogev R, et al, and the Pediatric AIDS Clinical Trials Group 1015 Team. Repeated supervised treatment interruption with progressive increases in "off-treatment" duration results in enhanced virologic control in a subset of pediatric individuals. [Abstract 19]. In: 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections in Denver, CO (February 2006).

Bremer JW, Lew JF, Cooper E, et al. Diagnosis of infection with human immunodeficiency virus type 1 by a DNA polymerase chain reaction assay among infants enrolled in the Women and Infants' Transmission Study. *J Pediatr*, 1996; 129:198-207.

Brenchley JM, Hill BM, Ambrozak DR, et al. T-cell subsets that harbour human immunodeficiency virus HIV in vivo: implications in HIV pathogenesis. *J Virol* 2004;78:1160-8.

Bryson YJ, Luzuriaga K, Sullivan JL, et al. Proposed definitions for in utero versus intrapartum transmission of HIV-1. *N Engl J Med* 1992;327:1246-7.

Burgard M, Mayaux MJ, Blanche S, et al. The use of viral culture and p24 antigen testing to diagnose human immunodeficiency virus infection in neonates. *N Engl J Med* 1992;327:1192-1197.

Buseyne F, Scott-Alcara D. The frequency of HIV-specific interferon-gamma -producing CD8 T cells is associated with both age and level of antigenic stimulation in HIV-1-infected children. *J. Infect. Dis.* 2005;192:1781-6. (a)

Buseyne F, Le Chenadec J, Burgard M, et al. In HIV type 1-infected children cytotoxic T lymphocyte responses are associated with greater reduction of viremia under antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005;21:719-27. (b)

Cameron DW, Heath-Chiozzi M, Danner S, et al. Randomised placebo-controlled trial of ritonavir in advanced HIV-1 disease. The Advanced HIV Disease Ritonavir Study Group. *Lancet*. 1998;351:543-9.

Cardiello PG, Hassink E, Ananworanich J, et al. A prospective, randomized trial of structured treatment interruption for patients with chronic HIV type 1 infection. *Clin. Infect. Dis.* 2005;40:594-600.

Centers for Disease Control and Prevention (1994). 1994 Revised Classification System for Human Immunodeficiency Virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 43:1-17.

Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. *MMRW* 1998;47(No. RR-4):15-17.

Chakraborty R, Musoke R, Palakudy T, Cross A, D'Agostino A. Management of severely immunocompromised human immunodeficiency virus type 1-infected African orphans with structured treatment interruption: another kind of salvage therapy. *Clin Infect Dis*. 2003 Jun 1;36(11):1483-5.

Charakida M, Donald AE, Green H, et al. Early structural and functional changes of the vasculature in HIV-1-infected children: impact of disease and antiretroviral therapy. *Circulation*. 2005;112:103-9.

Chiappini E, Galli L, Tovo PA, et al. Virologic, immunologic, and clinical benefits from early combined antiretroviral therapy in infants with perinatal HIV-1 infection. *AIDS* 2006;20:207-15

Ching N, Deville JG, Nielsen KA, Ank B, et al. Cellular and humoral immune responses to a tetanus toxoid booster in perinatally HIV-1-infected children and adolescents receiving highly active antiretroviral therapy (HAART). *Eur J Pediatr* 2007; 166: 51-56.

Colven R, Harrington RD, Spach DH, et al. Retroviral rebound syndrome after cessation of suppressive antiretroviral therapy in three patients with chronic HIV infection. *Ann Intern Med* 2000; 133:430-434.

Comeau AM, Harris JA, McIntosh K, et al. Polymerase chain reaction in detecting HIV infection among seropositive infants: relation to clinical

status and age to results of other assays. *J Acquired Immune Defic Syndr* 1992;5:271-278.

Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al. Reduction of maternal-infant transmission of HIV-1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331:1173-80.

Contopoulos-Ioannidis DG, Ioannidis JP. Maternal cell-free viremia in the natural history of perinatal HIV-1 transmission: a meta-analysis. *J AIDS*; 1998;18:126-35.

Currier JS, Baden LR. Getting smarter-the toxicity of undertreated HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2006;355:2359-61.

Danel C, Moh R, Sohro S, et al. The CD4-guided strategy arm stopped in a randomized structured treatment interruption trial in West-African adults: ANRS 1269 Tricavan trial. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. February 5-8, 2006; Denver, CO.

Delaugerre C, Peytavin G, Dominguez S et al. Virological and pharmacological factors associated with virological response to salvage therapy after an 8-week of treatment interruption in context of very advanced HIV disease. *J med Virol* 2005;77:345-50.

De Martino M, Tovo P, Galli L, et al. Prognostic significance of immunologic changes in 675 patients infants perinatally exposed to human immunodeficiency virus. *J Pediatr* 1991; 119:702-709

Deng H, Liu R, Ellmeier W, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996;381:661-6.

Derdeyn CA, Silvestri G. Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. *Curr Opin Immunol*. 2005 ;17(4):366-73.

De Rossi A, Ades AE, Mammano F, et al. Antigen detection, virus culture, polymerase chain reaction, and in vitro antibody production in the diagnosis of vertically transmitted HIV-1 infection. *AIDS* 1991; 5:15-20.

De Rossi A, Masiero S, Giaquinto C, et al. Dynamics of viral replication in infants with vertically acquired human immunodeficiency virus type-1 infection. *J Clin Invest* 1996;97:1-8.

De Rossi A, Walker S, Klein N. Increased thymic output after initiation of antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type-1-infected children in the Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) 5 trial. *J Infect Dis* 2002;186:312-20.t

Dickover R, Garratty E, Yusim K, Miller C, Korber B, Bryson Y. Role of maternal autologous neutralizing antibody in selective perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 escape variants. *J Virol*. 2006 ;80:6525-33.

Dorembaum A, Cunningham CK, Gelber RD, et al. Two-dose intrapartum/newborn nevirapine and standard antiretroviral therapy to reduce perinatal HIV transmission: a randomized trial. *JAMA* 2002;288:189-98.

Douek DC, Brenchley JM, Betts MR, et al. HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature* 2002;417:95-8.

Douek DC. Disrupting T-cell homeostasis: how HIV-1 infection causes disease. *AIDS Rev*. 2003;5:172-7. (a)

Douek DC, Picker LJ, Koup RA. T-cell dynamics in HIV-1 infection. *Annu Rev Immunol* 2003;21:265-304.(b)

Douek DC. Thymic output and HIV infection: on the right TREC. *Immunity*. 2004;21:744-5.

Dunn D. HIV Pediatric Prognostic Markers Collaborative Study Group. Short term risk of disease progression in HIV-1 infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy; a meta-analysis. *Lancet*. 2003;362:1605-11.

EI-Sadr W, Neaton J et al. Episodic CD4-guided use of antiretroviral therapy is inferior to continuous therapy: results of the SMART study. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. February 5-8, 2006; Denver, CO.

European Collaborative Study. Age-related standards for T lymphocyte subsets based on uninfected children born to HIV-1 infected mothers. *Pediatr Infect Dis* 1992;11:1018-26.

European Collaborative Study. Fluctuations of symptoms in HIV infected children: the first 10 years of life. *Pediatrics* 2001;108:116-22.

Fagard C, Oxenius A, Gunthard H, et al. A prospective trial of structured treatment interruptions in human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med*. 2003;163:1220-6.

Faye A, Bertone C, Teglas JP, Chaix ML, Douard D, Firtion G, et al. Early multitherapy including a protease inhibitor for human immunodeficiency virus type 1-infected infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;2:518-25.

Feeney ME, Draenert R, Roosevelt KA, et al. Reconstitution of virus-specific CD4 proliferative responses in pediatric HIV-1 infection. *J Immunol* 2003;171(12):6968-75.

Fernández Guerrero ML, Rivas P, Molina M, et al. Long-term follow-up of asymptomatic HIV-infected patients who discontinued antiretroviral therapy. *CID* 2005;41:390-4.

Finzi D, Siliciano RF. Viral dynamics in HIV-1 infection. *Cell*. 1998;93(5):665-71.

Fortuny C, González R, Polo R, et al. Recomendaciones CEVIHP/SEIP/AEP/PNS respecto al tratamiento antirretroviral en niños y adolescents infectados por el VIH. Marzo 2008. Disponible en www.msc.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/docs/guiasAntirretroviral_niñosAdolescentes2008.pdf

French M, Keane N, McKinnon E, Phung S, Price P. Susceptibility to opportunistic infections in HIV-infected patients with increased CD4 T-cell counts on antiretroviral therapy may be predicted by markers of dysfunctional effector memory CD4 T cells and B cells. *HIV Med* 2007;8:148-55.

Friman V, Gisslén M. Retroviral rebound syndrome after treatment discontinuation in a 15 year old girl with HIV attracted through mother-to-child transmission: case report. *AIDS Res Ther*. 2007 Feb 23;4:3.

Galli L, de Martino M, Tovo PA, Gabiano C, Zappa M, Giaquinto C et al (Italian register for HIV infection in Children). Onset of clinical signs in children with HIV-1 perinatal infection. *AIDS* 1995;9:455-461.

García de Olalla P, Knobel H, Carmona A, Guelar A, López-Colomes JL, Cayla JA. Impact of adherence and highly active antiretroviral therapy on survival in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:105-10.

García F, Plana M, Ortiz GM, et al. The virological and immunological consequences of structured treatment interruptions in chronic HIV-1 infection. *AIDS* 2001;15:F29-40.

Gibb DM et al. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA). HIV-1 viral load and CD4 cell count in untreated children with vertically acquired asymptomatic or mild disease. PENTA 1. *AIDS* 1998;12:F1-F8.

Gibb DM, Newberry A, Klein N, De Rossi A, Grosch-Woerner I, Babiker A. Immune repopulation after HAART in previously untreated HIV-infected children. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) Steering Committee. *Lancet*. 2000;355:1333-2.

Gibb DM, Duong T, Tookey PA, National Study of HIV in Pregnancy and Childhood Collaborative HIV Paediatric Study. Decline in mortality, AIDS, and hospital admissions in perinatally HIV-1 infected children in the United Kingdom and Ireland. *BMJ* 2003;327:1019. (a)

Gibb DM, Goodall RL, Giacomet V, McGee L, Compagnucci A, Lyall H, for the PENTA Steering Committee. Adherence to prescribed antiretroviral therapy in with human immunodeficiency virus infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:56-62 (b).

Gibb DM, Duong T, Leclezio VA, et al. Immunologic changes during unplanned treatment interruptions of highly active antiretroviral therapy in children with human immunodeficiency virus type 1 infection. *Ped Inf Dis J*. 2004; 23:446-50.

Giorgi JV, Hultin LE, et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor. *J Infect Dis* 1999;179:859-70.

Gloster SE, Newton P, Cornforth D, et al. Association of strong virus-specific CD4 T cell responses with efficient natural control of primary HIV-1 infection. *AIDS* 2004;18:749-55.

Greene WC, Peterlin BM. Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy. *Nat Med*. 2002;8:673-80

Grossman Z, Meier-Schellersheim M, Sousa AE, et al. CD4+ T-cell depletion in HIV infection: are we closer to understanding the cause? *Nat Med* 2002;8:319-23.

Gortmaker SL, Hughes M, Cervia J et al. Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. *N Engl J Med* 2001;345:1522-8.

Gougeon ML, Lecoœur H, Dulloust A, Enouf MG, Crouvoiser M, Goujard C, et al. Programmed cell death in peripheral lymphocytes from HIV infected persons: increased susceptibility to apoptosis of CD4 and CD8 cells correlates with lymphocyte activation and with disease progression. *J Immunol* 1996;156:3509-20.

Guadalupe M, Reay E, Sankaran S, et al. Severe CD4+ T-cell depletion in gut lymphoid tissue during primary human immunodeficiency virus type 1 infection and substantial delay in restoration following highly active antiretroviral therapy. *J Virol* 2003;77:11708-17.

Gulick RM, Mellors JW, Havlir D et al. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N Engl J Med*. 1997;337:734-9.

Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD et al. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team. *N Engl J Med*. 1996;335:1081-90.

Hendel H, Caillat-Zucman S, Iebuanec H, et al. New class I and II HLA alleles strongly associated with opposite patterns of progression to AIDS. *J Immunol* 1999;162:6942-6.

Hengel, R. L., M. S. Kennedy, R. W. Steketee, D. M. Thea, E. J. Abrams, G. Lambert, J. S. McDougal, et al. Neutralizing antibody and perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* 1998; 14:475-481.

Hecht FM, Wang L, Collier A, Little S, Markowitz M, Margolick J, Kilby JM, Daar E, Conway B, Holte S; AIEDRP Network. A multicenter observational study of the potential benefits of initiating combination antiretroviral therapy during acute HIV infection. *J Infect Dis.* 2006;194:725-33.

Hicks CB, Gay C, Ferrari G. Acute HIV infection: the impact of anti-retroviral treatment on cellular immune responses. *Clin Exp Immunol.* 2007;149:211-6.

Hirschel B. Planned interruptions of anti-HIV-1 treatment. *Lancet Infect Dis.* 2001;1:53-9.

HIV Paediatric Prognostic Markers Collaborative Study Group. Short term risk of disease progression in HIV-1 infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet* 2003;362:1605-11.

Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-6.

Huang Y, Paxton WA, Wolinsky SM et al. The role of mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat Med* 1996;2:1240-3.

Hulstaert F, Hannel I, Deneys V, et al. Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Clin Immunol and Immunopathol* 1994;70:152-58.

International Perinatal HIV Group. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of HIV-1: a meta-

analysis of 15 prospective cohort studies. *N Engl J Med* 1999;340:977-87.

International Perinatal HIV Group. Duration of ruptured membranes and vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis from 15 prospective cohort studies. *AIDS.* 2001;15(3):357-68.

Jansson M, Orlandi P, Scarlatti G, et al. Role of immunity in maternal-infant HIV-1 transmission. *Acta Paediatr Suppl.* 1997;421:39-45.

Jaquet D, Levine M, Ortega-Rodríguez E, Faye A, Polak M, Vilmer E, et al. Clinical and metabolic presentation of the lipodystrophic syndrome in HIV-infected children. *AIDS.* 2000;14:2123-8.

Kassutto S, Maghsoudi K, Johnston MN, Robbins GK, Burgett NC, Sax PE, Cohen D, Pae E, Davis B, Zachary K, Basgoz N, D'agata EM, DeGruttola V, Walker BD, Rosenberg ES. Longitudinal analysis of clinical markers following antiretroviral therapy initiated during acute or early HIV type 1 infection. *Clin Infect Dis.* 2006;42:1024-31.

Katlama C, Dominguez S, Gourelain K et al. Benefit of treatment interruption in HIV-infected patients with multiple therapeutic failures: a randomized controlled trial. *AIDS* 2004;18:217-26.

Kaufmann DE, Bailey PM, Sidney J et al. Comprehensive analysis of human immunodeficiency virus type 1-specific CD4 responses reveals marked immunodominance of gag and nef and the presence of broadly recognized peptides. *J Virol* 2004;78:4463-77.(a)

Kaufmann DE, Lichterfeld M, Altfeld M, et al. Limited durability of viral control following treated acute HIV infection. *PLoS Med* 2004;1:e36. (b)

Korber B, Muldoon M, Theller J, et al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science* 2000;288:1789-96.

- Kourtis AP**, Ibegbu C, Nahmias AJ, et al. Early progression of disease in HIV-infected infants with thymus dysfunction. *N Engl J Med* 1996;335:1431-6.
- Kovacs A**, Montepiedra G, Carey V, Pahwa S, et al. Immune reconstitution after receipt of HAART in children with advanced or progressive HIV disease and complete or partial viral load response. *J Infect Dis* 2005;192:296-302.
- Lallemant M**, Jourdain G, Le Coeur S, et al. A randomized, double-blind trial assessing the efficacy of single-dose perinatal nevirapine added to standard zidovudine regimen for the prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Thailand. *N Engl J Med*. 2004;351:217-28.
- Lallemant M**, Burger D, Lyall H, Buck L, Compagnucci A, et al, on behalf of PENTA 11. Pharmacokinetic and virological evaluations after stopping NNRTIs in children: a substudy of the PENTA 11 (TICCH) trial. [Abstract MOPE0206]. In: XVI International AIDS Conference in Toronto, Canada (August 2006).
- Lambert JS**, Harris DR, Stiehm ER, et al. Performance characteristics of HIV-1 culture and HIV-1 DNA and RNA amplification assays for early diagnosis of perinatal HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*; 2003. 34:512-9.
- Lampe FC**, Porter K, Kaldor J, Law M, Kinloch-de Loes S, Phillips AN; CASCADE Collaboration. Effect of transient antiretroviral treatment during acute HIV infection: comparison of the Quest trial results with CASCADE natural history study. *Antivir Ther*. 2007;12:189-93.
- Landor M**, Rubinstein A, Kim A, Calvelli T, Mizrachi Y. Receptor-mediated maternofetal transfer of immunoglobulins. Inhibition of transport of anti-HIV-1 immunoglobulin by generic immunoglobulins in the in vitro perfused placenta. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998 ;115:203-9.
- Larder BA**, Kellam P, Kemp SD. Zidovudine resistance predicted by direct detection of mutations in DNA from HIV-infected lymphocytes. *AIDS* 1991;5:137-44.
- Lee JC**, Boechat MI, Belzer M, Church JA, De Ville J, Nielsen K, Weston S, Geng , Dunaway T, Kitchen C, Krogstad PA. Thymic volume, T-cell populations, and parameters of thymopoiesis in adolescent and adult survivors of HIV infection acquired in infancy. *AIDS*. 2006;20:667-74.
- Leonard EG**, McComsey GA. Metabolic complications of antiretroviral therapy in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:77-84.
- Liao Z**, Cimkakasky L.M., Hampton, R., Nguyen, D.H. & Hildreth, J.E. Lipid rafts and HIV pathogenesis: host membrane cholesterol is required for infection by HIV type 1. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2001;17: 1009-19.
- Lisse IM**, Qureshi K, Poulsen A, et al. T-lymphocyte subsets and eosinophil counts in acute and convalescence chickenpox infection: a household study in Guinea-Bissau. *J Infect* 2005; 50:125-29.
- Lisziewicz J**, Lori F. Structured treatment interruptions in HIV/AIDS therapy. *Microbes and infection*, 2002;4:207-14.
- Lori F**, Lisziewicz J. Structured treatment interruptions for the management of HIV-1 infection. *JAMA*. 2001;286:2981-7.
- Lowenthal E**, Marape M, Mathuba K, Calles N, Millon J, Schwarzwald H, Ferris M, Kozinetz C, Kline M, Anabwani G. A Randomized, comparative trial of continuous vs intermittent HAART in HIV-infected infants and children in Botswana. [Abstract 700]. In: 13th Conference on

Retroviruses and Opportunistic Infections in Denver, CO (February 2006).

Lujan-Zilbermann J, Bitar W, Knapp K, Flynn P. Human immunodeficiency virus type 1 RNA polymerase chain reaction reasonably excludes infection in exposed infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:97-9.

Luzuriaga K, McManus M, Catalina M, Mayack S, Sharkey M, Stevenson M, Sullivan JL. Early therapy of vertical human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: control of viral replication and absence of persistent HIV-1-specific immune responses. *J Virol* 2000;74:6984-91.

Luzuriaga K, Mc Manus BA, Mofenson L, Britto P, Graham B, Sullivan JL, for the PACTG 356 investigators. A trial of three antiretroviral regimens in HIV-1-infected children. *N Engl J Med*. 2004;350:2471-80.

Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR et al. Age, thymopoiesis, and CD4 T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy. *N Engl J Med* 1995;332:143-9.

Mandelbrot L, Landreau-Mascaro A, Rekacewicz C, et al. Lamivudine-zidovudine combination for the prevention of maternal-infant transmission of HIV-1. *JAMA* 2001;285:2129-31.

Martin S, Elliott-DeSorbo DK, Wolters PL et al. Patient, caregiver and regimen characteristics associated with adherence to highly active antiretroviral therapy among HIV-infected children and adolescents. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26:61-7.

Maggiolo F, Ripamonti D, Gregis G, Quinzan G, Callegaro A, Suter F. Effect of prolonged discontinuation of successful antiretroviral therapy on CD4 T cells: a controlled, prospective trial. *AIDS*. 2004;18:439-46.

Mayaux MJ, Burgard M, Teglas JP et al for the French Pediatric HIV infection study group. Neonatal characteristics in rapidly progressive perinatally acquired HIV disease. *JAMA* 1996;275:606-610.

Mc Comsey GA, Leonard E. Metabolic complications of HIV therapy in children. *AIDS*. 2004;18:1753-68.

McComsey GA, O'riordan M, Hazen SL, El-Bejjani D, Bhatt S, Brennan ML, Storer N, Adell J, Nakamoto DA, Dogra V. Increased carotid intima media thickness and cardiac biomarkers in HIV-1 infected children. *AIDS*. 2007;21:921-27.

Mofenson LM, Korelitz J, Meyer WA, 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. *J Infect Dis* 1997;175:1029-38.

Mofenson LM, Lambert JS, Stiehm ER, et al. Risk factors for perinatal transmission of HIV-1 in women treated with zidovudine. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Study 185 Team. *NEJM* 1999;341:385-93.

Moltó J, Ruiz L, Romeu J, et al. Influence of prior structured treatment interruptions on the length of time without antiretroviral therapy in chronically HIV-infected subjects. *AIDS Research and Hum Retrov* 2004:1283-88.

Monpoux F, Tricoire J, Lalande M, et al. Treatment interruption for virological failure or as a sparing regimen in children with chronic HIV-1 infection. *AIDS* 2004;18:2401-09.

Mora S, Sala N, Bricalli D, Zuin G, Chiumello G, Viganò A. Bone mineral loss through increased bone turnover in HIV-infected children treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2001;15:1823-9.

- Nemes E**, Lugli E, Nasi M et al. Immunophenotype of HIV+ patients during CD4 cell-monitored treatment interruption: role of the IL-7/IL-7 receptor system. *AIDS* 2006; 20:2021-32.
- Newell ML**, Peckham C, Dunn D, Ades T, Giaquinto C. Natural history of vertically acquired immunodeficiency virus-1 infection: The European Collaborative Study. *Pediatrics* 1994; 94:815-819.
- Nduati R**, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1.A randomized clinical trial. *JAMA*,2000;283:1167-74.
- Noguera A**, Fortuny C, Sanchez E, Artuch R, Vilaseca MA, Munoz-Almagro C, Pou J, Jimenez R. Hyperlactatemia in human immunodeficiency virus-infected children receiving antiretroviral treatment. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:778-82.
- Owens DK**, Holodniy M, McDonald TW, Scott J, Sonnad S. A meta-analytic evaluation of the polymerase chain reaction for the diagnosis of HIV infection in infants. *JAMA*. 1996;275:1342-8.
- Pai NP**, Lawrence J, Reingold AL, Tulskey JP. Structured treatment interruptions (STI) in chronic unsuppressed HIV infection in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;3:CD006148.
- Palmer BE**, Boritz E, Wilson CC. Effects of sustained HIV-1 plasma viremia on HIV-1 Gag-specific CD4+ T cell maturation and function. *J Immunol* 2004;172:3337-47.
- Palumbo PE**, Kwok S, Waters S, et al. Viral measurement by polymerase chain reaction-based assays in human immunodeficiency virus-infected infants. *J Pediatr* 1995;126:592-95.
- Paranjape RS**. Immunopathogenesis of HIV infection. *Indian J Med Res* 2005;121:240-55.
- Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA)**. HIV-1 viral load and CD4 cell count in untreated children with vertically acquired asymptomatic or mild disease. *AIDS* 1998;12:F1-8.
- Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA)**. 72-week follow-up of HARRT started in infants aged less than 3 months: CD4, viral load and drug resistance outcomes. *AIDS* 2004;18:237-45.
- Pellegrin I**, Thiebaut R, Blanco P, Viallard JF, Schrive MH, et al. Can highly active antiretroviral therapy be interrupted in patients with sustained moderate HIV RNA and > 400 CD4+ cells/microl? Impact on immuno virological parameters. *J Med Virol*. 2005;77:164-72.
- Plana M**, García F, Oxenius A, et al. Relevante of HIV-1-specific CD4+ helper T-cell responses during structured treatment interruptions in patients with CD4+ T-cell nadir above 400/mm³. *JAIDS* 2004;36:791-9.
- Powderly WG**, Landay A, Lederman MM.. Recovery of the immune system with antiretroviral therapy: the end of opportunism? *JAMA*. 1998;280:72-7.
- Ramos JT**, Drummond T, Garrido-Lestache E, Izco S, González-Tome MI, Rojo P, Mialdea PP, Lillo M. Outcome of antiretroviral treatment interruptions in HIV-1 infected children. [Abstract PE15.2/5]. In: 10th European AIDS Conference in Dublin, Ireland (November 2005).
- Read JS** and the Committee on Pediatric AIDS. Diagnosis of HIV-1 Infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 2007;120:e1547-62.

Resino S, Bellón JM, Gurbindo D, Ramos JT, León JA, Mellado MJ, et al. Viral load and CD4+ T-cells response to HAART in HIV-infected children: a observational study. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1216-25. (a)

Resino S, Abad ML, Navarro J et al. Stimulated proliferative responses in vertically HIV-infected children on HAART correlate with clinical and immunological markers. *Clin Exp Immunol* 2003;131:130-37 (b).

Resino S, Rivero L, Ruiz-Mateos E, et al. Immunity in HIV infected adults with previous state of moderate-severe immunosuppression and more than 500 CD4+ T-cell after highly active antiretroviral therapy. *J Clin Immunol* 2004;24:379-88.

Richman DD, Havlir D, Corbeil J et al. Nevirapine resistance mutations of HIV-1 selected during therapy. *J Virol* 1994;68:1660-66.

Rosemberg ES, Altfield M, Poon SH, et al. Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature* 2000;407:523-6.

Ruiz L, Martínez-Picado J, Romeu J, et al. Structured treatment interruption in chronically HIV-1 infected patients after long-term viral suppression. *AIDS* 2000;14:397-403.

Ruiz L, Gómez L, Domingo P, Romeu J, Tambussi G, Martínez Picazo J, et al. A multi-center, randomized controlled clinical trial of continuous versus intermittent HAART guided by CD4+ T-cell counts and plasma HIV-1 RNA levels. Program and abstracts of the 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections [abstract 65]. Boston, 10-14 de febrero, 2003.

Ruiz L, Paredes R, Gómez G, et al. Antiretroviral therapy interruption guided by CD4 cell counts and plasma HIV-1 RNA levels in chronically HIV-1-infected patients. *AIDS* 2007;21:169-78.

Saitoh A, Hsia K, Fenton T, Powell CA, Christopherson C, Fletcher CV, et al. Persistence of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 DNA in peripheral blood despite prolonged suppression of plasma HIV-1 RNA in children. *J Infect Dis.* 2002;185:1409-16.

Saitoh A, Foca M, Viano RM, et al. Clinical outcomes after an unstructured treatment interruption in children and adolescents with perinatally acquired HIV infection. *Pediatrics* 2008; 121: e513-e521.

Scarlatti, G. et al. *In vivo* evolution of HIV-1 co-receptor usage and sensitivity to chemokine-mediated suppression. *Nature Med.* 1997; 3: 1259-65.

Scott ZA, Beaumier CM, Sharkey M, Stevenson M, Luzuriaga K. HIV-1 replication increases HIV-specific CD4+ T cell frequencies but limits proliferative capacity in chronically infected children. *J Immunol.* 2003;170:5786-92.

Sharland M, Blanche S, Castelli G, Ramos JT, Gibb D, on behalf of the PENTA steering committee. PENTA (Pediatric European Network for Treatment of AIDS). European guidelines of antiretroviral treatment of HIV-infected children. *HIV Medicine.* 2004;5 Suppl 2:61-86.

Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P, et al. Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 1997;336:1337-42.

Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, et al; Pediatric AIDS Clinical Trials Group. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:973-80.

Siliciano RF, Kajdas DJ, Finzi D, Quinn TC, Chadwick K, Margolick JB, et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent

reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. *Nat Med.* 2003;9:727-8.

Soh C-H, Oleske J, Brady MT et al. Long-term effects of combination therapy including protease inhibitors on CD4 T cell recovery in HIV-1 infected children and adolescents. *Lancet* 2003;362:2045-51.

Sperling RS, Shapiro DE, Coombs RZ, et al. Maternal viral load, zidovudine treatment, and the risk of transmission of HIV-1 from mother to infant. *NEJM*: 1996;335:1621-9.

Spiegel HM, Chandwani R, et al. The impact of early initiation of highly active antiretroviral therapy on the human immunodeficiency virus type 1-specific CD8 T cell response in children. *J Infect Dis.* 2000;182:88-95.

Stebbing J, Gazzard B, Douek DC. Where does HIV live? *NEJM*: 2004;350:1872-80.

Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group; El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med.* 2006;355:2283-96.

Tarwater P, Parish MA, Gallant JE. Prolonged treatment interruptions after immunologic response to highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1541-8.

Tebas P, Henry K, Mondy K, et al. Effect of prolonged discontinuation of successful antiretroviral therapy on CD4+ T cell decline in human immunodeficiency virus-infected patients: implications for intermittent therapeutic strategies. *J Infect Dis* 2002;186:851-4.

Thiebaut R, Pellegrin I, Chene G, Viallard JF, Fleury H, Moreau JF, Pellegrin JL, Blanco P. Immunological markers after long-term treatment interruption in chronically HIV-1 infected

patients with CD4 cell count above 400 x 10(6) cells/l. *AIDS.* 2005;19:53-61.

The European Mode of Delivery Collaboration. Elective cesarean-section versus vaginal delivery in prevention of vertical HIV-1 transmission: a randomized clinical trial. *Lancet* 1999;353:1035-9.

Touloumi G, Pantazis N, et al. Changes in T cell receptor excision DNA circle (TREC) levels in HIV type 1-infected subjects pre- and post-highly active antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2004;20:47-54.

Tovo PA, de Martino M, Gabiano C, et al. Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV infection. *Lancet* 1992; 339:1249-1253.

Vigano A, Mora S, Testolin C, Beccio S, Schneider L, Bricalli D, et al. Increased lipodystrophy is associated with increased exposure to highly active antiretroviral therapy in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32:48-59.

Violari A, Cotton M, Gibb D, Babiker A, Steyn J, Jean-Phillip P, et al. Antiretroviral therapy initiated before 12 weeks of age reduces early mortality in young HIV-infected infants: evidence from the Children with HIV Early Antiretroviral Therapy (CHER) Study. [Abstract WESS103]. In: 4th International AIDS Society (IAS) Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention in Sidney, Australia (July 2007).

Vogel M, Lichterfeld M, Kaufmann DE, Mui SK, Altfeld M, Voigt E, Ahlenstiel G, Kupfer B, Walker B, Spengler U, Rockstroh JK. Structured treatment interruptions following immediate initiation of HAART in eight patients with acute HIV-1 seroconversion. *Eur J Med Res.* 2006;11:273-8.

Walker AS, Doerholt K, Sharland M, Gibb DM, for the Collaborative HIV Paediatric Study (CHIPS) Steering

Committee. Response to highly active antiretroviral therapy varies with age: The UK and Ireland Collaboraty HIV Paediatric Study. *AIDS*. 2004;18:1915-24.

Wade AM, Ades AE, Dunn DT, et al. Age-related standards for T lymphocyte subsets based on uninfected children born to HIV-1-infected women. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:1018-26.

Watson DC, Farley JJ. Efficacy of and adherence to highly active antiretroviral therapy in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18:682-9.

Weinberg A, Pott, GB. Immunity to human immunodeficiency virus (HIV) in children with chronic HIV infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:821-5.

WHO/UNAIDS. AIDS epidemic update. December 2007.

Wu H, Kuritzkes D, Mc Clernon D, et al. Multiple CD4+ cell kinetic patterns and their relationships with baseline factors and virological responses in HIV type-1 patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001;17:1231-40.

Ye P, Kirschner DE, Kourtis AP. The thymus during HIV disease: role in pathogenesis and in immune recovery. *Curr HIV Res*. 2004;2:177-83.

Apéndice 1

Clasificación de la infección por el VIH en la edad pediátrica:

Categorías Clínicas

(Centers for Disease Control and Prevention, 1994)

Categoría N: Asintomática.

Pacientes sin signos ni síntomas secundarios a la infección por el VIH o sólo con una de las patologías de la **Categoría A**.

Categoría A: Síntomas leves.

Pacientes que presenten dos o más de las siguientes patologías, pero ninguna de las patologías incluidas en las **Categorías B o C**.

- Linfadenopatías (≥ 0.5 cm en dos localizaciones; bilateral equivale a una sola localización).
- Hepatomegalia.
- Esplenomegalia.
- Dermatitis.
- Parotiditis.
- Infección recurrente o persistente de las vías respiratorias altas, sinusitis o otitis media.

Categoría B: Síntomas moderados.

Pacientes sintomáticos que presenten patología secundaria atribuible a la infección por el VIH y que no esté incluida en las **Categorías A o C**. Las siguientes son algunos ejemplos:

- Anemia (hemoglobina < 8 g/dL), neutropenia (< 1000 /mm³), o trombopenia (< 100000 /mm³) que persisten durante más de 30 días.
- Meningitis, neumonía o sepsis de origen bacteriano.
- Candidiasis orofaríngea que persiste más de 2 meses en niños mayores de 6 meses.
- Miocardiopatía.
- Infección por *Cytomegalovirus* que debute antes del mes de vida.
- Diarrea recurrente o crónica.
- Hepatitis.
- Estomatitis por *Herpes simplex* recurrente (> 2 episodios en un año).
- Bronquitis, neumonía o esofagitis por *Herpes simplex* que debuten antes del mes de vida.
- Herpes zóster recurrente (≥ 2 episodios) o que afecte más de un dermatoma.
- Leiomiocarcinoma.
- Neumonía intersticial linfocítica.
- Nefropatía.
- Nocardiosis.
- Fiebre de más de un mes de duración.
- Toxoplasmosis que debute antes del mes de vida.
- Varicela diseminada.

Categoría C: Síntomas graves.

Pacientes que presenten cualquiera de las patologías definitorias de SIDA (*Centers for Disease Control and Prevention, 1987*), con la excepción de la Neumonía Intersticial Linfoide, que pertenece a la **Categoría B**.

- Infecciones bacterianas graves, múltiples o recurrentes (≥ 2 infecciones confirmadas por cultivo en un periodo de 2 años): sepsis, neumonía, meningitis, osteomielitis, artritis o abscesos de órganos internos.
- Candidiasis esofágica o pulmonar (bronquis, tráquea y pulmones).
- Coccidioidomicosis diseminada.
- Criptococosis extrapulmonar.
- Criptosporidiasis o isosporidiasis con diarrea persistente durante >1 mes.
- Infección activa por *Cytomegalovirus* que debuta después del mes de vida (de localización diferente a hígado, bazo o ganglios linfáticos).
- Encefalopatía (no atribuible a otras patologías; uno de los siguientes hallazgos, de evolución progresiva durante >2 meses): pérdida o retraso en las adquisiciones propias de la edad, disminución de la capacidad intelectual, microcefalia adquirida o atrofia cerebral y déficits motores simétricos.
- Úlcera mucocutánea por *Herpes simplex* persistente durante >1 mes, o bronquitis, neumonitis o esofagitis herpética de inicio más allá del mes de vida.
- Histoplasmosis diseminada.
- Sarcoma de Kaposi.
- Linfoma primario del SNC.
- Linfoma de Burkitt o inmunoblástico o linfoma de células B o de fenotipo inmunológico desconocido.
- Infección por *Mycobacterium tuberculosis* diseminada o extrapulmonar.
- Infección por otras especies de *Mycobacterium* o especies no identificadas, diseminadas.
- Infección por el complejo *Mycobacterium avium* o por *Mycobacterium kansasii* diseminada.
- Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*.
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.
- Bacteriemia recurrente por *Salmonella* no tifoidea.
- Toxoplasmosis cerebral de inicio posterior al mes de vida.
- Síndrome de emaciación (no atribuible a otras patologías): pérdida mantenida de peso superior al 10%, o bien, peso por debajo del percentil 5 en niños, además de: diarrea crónica (≥ 2 deposiciones/día durante 30 días), o bien, fiebre documentada durante 30 días, intermitente o constante.

Apéndice 2

Clasificación de la infección por el VIH en la edad pediátrica:

Categorías Inmunológicas

(Centers for Disease Control and Prevention, 1994)

Categoría Inmunológica	<12 meses		1-5 años		6-12 años	
	Linfocitos CD4 /mm ³	%	Linfocitos CD4 /mm ³	%	Linfocitos CD4 /mm ³	%
Categoría 1: No inmunodepresión	≥ 1500	≥ 25%	≥ 1000	≥ 25%	≥ 500	≥ 25%
Categoría 2: Inmunodepresión moderada	750-1499	15-24%	500-999	15-24%	200-499	15-24%
Categoría 3: Inmunodepresión grave	< 750	< 15%	< 500	< 15%	< 200	< 15%

COMUNICACIONES EN CONGRESOS

1. A. Noguera, **L Alsina**, C. Muñoz-Almagro, G. Claret, E. Sánchez, C. Fortuny. Programmed Treatment Interruption (PTI) in HIV-infected Children with Optimal Virological Response to First-line HAART: a Three-year Follow-up. 14th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), 2007. Los Angeles (US). Ref: Book of abstracts:135.
2. **L. Alsina**, A. Noguera, C. Muñoz-Almagro, E. Tuset, E. Sanchez, C. Fortuny. Immunologic Outcome after Programmed Treatment Interruption (PTI) in HIV-infected Children: a Three-year Follow-up. 25th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases – ESPID, Porto, Portugal, 2007. REF: Book of abstracts:49
3. **L. Alsina**, A. Noguera, R. Bellido, L. Ruiz, E. Sánchez, C. Fortuny. Antigen-Specific CD4+ Immune Responses Against HIV Measured by ELISPOT in Vertically HIV-Infected HAART-Treated Children after Planned Treatment Interruption. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), 2008. Boston (US).

PUBLICACIONES

A. Noguera*, **L Alsina***, C. Muñoz-Almagro, E. Sánchez, C. Fortuny. Programmed Treatment Interruption (PTI) in HIV-infected Children with Optimal Virological Response to First-line HAART: a Three-year Follow-up (pendiente de publicación).

*ambos autores han contribuido por igual a la elaboración del artículo.