



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
DE LA NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN  
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGÍA**

**RESPUESTAS DISCORDANTES A LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN  
PACIENTES MEXICANOS DE UN CENTRO DE REFERENCIA: RELACION CON  
CARGA VIRAL RESIDUAL.**

**AUTOR:**

**Dr. JOSÉ MILLÁN OÑATE GUTIÉRREZ  
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA  
RESIDENTE DEL POSGRADO EN INFECTOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

**México, D.F.**

**2006**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
DE LA NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN  
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGÍA**

**RESPUESTAS DISCORDANTES A LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES  
MEXICANOS DE UN CENTRO DE REFERENCIA: RELACION CON CARGA VIRAL  
RESIDUAL.**

**TUTOR:**

**Dr. LUIS ENRIQUE SOTO RAMÍREZ  
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA E INFECTOLOGIA  
JEFE DEL LABORATORIO DE VIROLOGÍA MOLECULAR  
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

**ASESORES DE TESIS:**

**Dr. GUILLERMO RUIZ-PALACIOS Y SANTOS  
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA E INFECTOLOGIA  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

**DRA. MARÍA DE LOURDES GUERRERO ALMEIDA  
INVESTIGADOR TITULAR  
INVESTIGADOR TITULAR II  
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES**



**DR JUAN JOSE CALVA MERCADO  
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA E INFECTOLOGIA  
SUBDIRECTOR DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

**DR. ARTURO GALINDO FRAGA  
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA E INFECTOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios:**

**Padre celestial por la guía, la fé y la esperanza.**

**A mi Ana:**

**Por tu amor y comprensión, por ser mis sueños hechos realidad. Sin tí no hubiera podido realizar esta meta.**

**A mis padres:**

**Por darme la vida y los ejemplos a seguir.**

**A mis hermanas:**

**Por la compañía y todos los momentos felices.**

**Al Dr. Soto:**

**Por sus enseñanzas, paciencia y dedicación.**

**Al Dr. Ruíz-Palacios:**

**Por su constante apoyo e incansable labor en nuestra formación.**

**A Arturo:**

**Por la constante motivación y enseñanzas.**

**Al Dr. Juan Calva:**

**Por sus enseñanzas.**

**A Robert, Luis, Mario, Griselda, Mónica, Elsa, Edith:**

**Por su amistad e invaluable ayuda, les corresponde parte del crédito de este proyecto.**

**A Rocío:**

**Por la paciencia y buena voluntad.**

**A Antonio, Brenda, Carolina, Daniella, Luis y Fernando:**

**Por el compañerismo y apoyo.**

**A los pacientes de la clínica de SIDA del INCMNSZ:**

**Porque ellos son la razón de nuestros esfuerzos.**

## Indice

### **Resumen**

#### **1. Introducción**

#### **2. Problema**

##### **2.1 Problema General**

##### **2.2 Problemas específicos**

#### **3. Objetivos e Hipótesis**

##### **3.1 Objetivos**

###### **3.1.1 Objetivo general**

###### **3.1.2 Objetivos específicos**

##### **3.2 Hipótesis**

###### **3.2.1 Hipótesis general**

###### **3.2.2 Hipótesis específicas**

#### **4. Justificación**

#### **5. Antecedentes**

#### **6. Materiales y Métodos**

##### **6.1 Diseño**

##### **6.2 Población**

##### **6.3 Lugar del estudio**

##### **6.4 Criterios de inclusión**

##### **6.5 Criterios de exclusión**

##### **6.6 Variables**

##### **6.7 Procedimientos**

###### **6.7.1 Población de pacientes**

###### **6.7.2 Procedimiento para realización**

**de CV supersensible**

## **6.8 Análisis Estadístico**

## **7. Aspectos éticos**

## **8. Resultados**

## **9. Discusión**

## **10. Conclusiones**

## **11. Referencias bibliográficas**

Palabras Claves:

Discordancia inmunológica, terapia antirretroviral, sida, carga viral supersensible, CD4s.

# **RESPUESTAS DISCORDANTES A LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES MEXICANOS DE UN CENTRO DE REFERENCIA: RELACION CON CARGA VIRAL RESIDUAL.**

## **RESUMEN**

### **Introducción**

Se desconoce la incidencia de respuestas discordantes en los países de América Latina, incluido México y los factores relacionados con su aparición.

### **Objetivos**

Determinar la prevalencia de respuesta discordante a TARAA en la cohorte de pacientes del INCMNSZ, definir los criterios para considerar una respuesta discordante e identificar los factores de riesgo para la aparición de discordancia. A través de la realización de la carga viral (CV) por métodos supersensibles determinar la actividad replicativa residual y su relación con discordancia inmunológica.

### **Materiales y Métodos**

El estudio fue realizado en el Departamento de Infectología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán, en la Ciudad de México. Se llevó a cabo un estudio epidemiológico, observacional y comparativo, basado en la revisión de expedientes clínicos y con la actualización de la CV utilizando métodos supersensibles, en una cohorte de pacientes diagnosticados con VIH, vírgenes a tratamiento, que recibieron Tratamiento Antirretroviral Altamente Activo (TARAA) y cuya CV remitió a niveles indetectables en sangre.

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico STATA<sup>TM</sup> Special Edition, versión 8 (Stata Corporation, College Station, Texas.).

### **Resultados**

Desde enero de 2006 hasta el 31 de julio de 2005, se incluyó una cohorte de 199 pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que cumplieron con los criterios de selección (inclusión y exclusión) del estudio. La ganancia de CD4s por cada año de seguimiento fue de 85 Cel/mL, sin embargo, con el modelo de

regresión lineal utilizado, el incremento de CD4s ajustado fue de 75 Cel/mL. Discordancia inmunológica fue definida como un incremento no uniforme en la cuenta de CD4s o decremento en el nivel durante el tiempo de seguimiento, así como el no alcance de un nivel  $\geq 500$  células/mL entre los 3 y 5 años de seguimiento activo.

41% de los pacientes fueron discordantes y los factores asociados con pobre incremento de CD4s fueron el nivel de CD4s basal  $< 200$  Cel/mL, la CV pre-TARAA  $\geq 75.000$  Copias/mL, la edad  $\geq 40$  años y el nivel basal de CD8s  $< 700$  cel/mL. La CV residual no tiene relación con la aparición de discordancia.

Se realizó una gráfica de predicción del incremento de CD4s con respecto al tiempo de seguimiento en cada uno de los pacientes con VIH que reciben tratamiento con TARAA.

## **DISCUSION**

Los resultados de este estudio señalan, que aquellos pacientes con máxima supresión viral tienen incrementos constantes en su cuenta celular de CD4s por un período mínimo de 3 años. La prevalencia de discordancia inmunológica fue mayor que lo reportado y además no se observó el impacto clínico de discordancia inmunológica. Se logró realizar la detección de CV con las modificaciones al método convencional, la mayoría de ellos no tenían viremia residual. En los pacientes con viremia residual detectable, no se encontró relación con la discordancia inmunológica, con el nivel de CD4s basales ni con el tipo de terapia utilizada.

## **CONCLUSIONES**

La respuesta discordante a TARAA es un fenómeno común, con una incidencia variable que depende de los criterios utilizados para la clasificación de los pacientes. Los mecanismos que determinan la aparición de discordancia siguen sin ser elucidados.

## 1. INTRODUCCION

La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se caracteriza por una continúa pérdida de linfocitos T CD4s+ con inmunodeficiencia subsecuente, aparición de infecciones oportunistas y neoplasias asociadas. Existe una clara relación inversa entre el número de CD4s circulantes en sangre periférica y el riesgo de enfermedades asociadas al VIH.

Desde la aparición del SIDA, el mayor éxito terapéutico ha sido la introducción de la terapia antirretroviral altamente activa (TARAA) en 1995. La TARAA disminuye la replicación viral, reduciendo la carga viral (CV) a niveles indetectables en sangre, permitiendo así, que los mecanismos homeostáticos del sistema inmunológico restauren en forma por lo menos parcial la población de CD4s perdidos; con la consecuente disminución de la morbimortalidad, mejorando la esperanza y la calidad de vida de los pacientes infectados. Grandes cohortes de seguimiento (EuroSIDA<sup>1</sup>, SWISS<sup>2</sup>, Italian Antiretroviral Treatment Group<sup>3</sup>, ART<sup>4,5</sup> y de São Paulo<sup>6</sup>) han confirmado esta observación y coinciden en reportar que la tasa actual de progresión a SIDA o muerte es del 5-12% en aquellos pacientes bajo tratamiento comparado con una mortalidad de 56% descrita previo TARAA.<sup>7</sup> Posterior al inicio de TARAA, los CD4s aumentan en forma progresiva en un período entre 3-5 años, sin embargo, los mecanismos que determinan este incremento no están del todo conocidos y se asocian a factores virales, del huésped e inclusive del tratamiento.<sup>8-10</sup>

Los estudios que han evaluado la respuesta a TARAA, han descrito un número significativo de pacientes con supresión viral sin incrementos en la cuenta celular de CD4s, por ejemplo en la cohorte SWISS<sup>2</sup>, 36% de los pacientes con adecuada supresión virológica (<1000 Copias/mL) no lograron incrementar el conteo celular

de CD4s a 500 cel/mL después de 5 años de tratamiento y la mitad de estos pacientes alcanzaron un nivel de meseta o de “techo inmunológico”.

La respuesta discordante, es definida como el pobre incremento de CD4s a pesar de la adecuada supresión viral, y respuesta paradójica si se presenta viremia detectable con incremento de CD4s.<sup>10</sup> Diferentes cohortes de estudio han evaluado estos fenómenos, reportando diferentes tasas de prevalencia, que dependen de los criterios usados para la definición de discordancia inmunológica, del tiempo de seguimiento y del tipo de paciente estudiado (vírgenes vs expuestos a TARAA).<sup>1,2,4,5,11-22</sup>

Desde el 2003 existe en México acceso universal a TARAA, lo cual implica un enorme gasto económico. La presencia de respuestas discordantes podrían menospreciar este esfuerzo, ya sea por reducir el éxito terapéutico o por favorecer el desarrollo de infecciones oportunistas. Por esta razón es importante tener una idea clara de la frecuencia de respuestas discordantes en México, así como sus causas y posibles repercusiones. De tal forma que podamos desarrollar estrategias en el manejo y seguimiento de los pacientes, revirtiendo así los efectos negativos de este fenómeno.

Las actuales guías de tratamiento para los adultos infectados con el VIH, recalcan que el objetivo de la terapia es obtener CV < 50 Copias/mL a las 48 semanas, siendo este límite de detección la ventana que augura un mejor desenlace en la respuesta al tratamiento.<sup>23,24</sup> Se conoce que TARAA no puede erradicar aquellas formas virales integradas al genoma del huésped (provirus), los cuales son fuente de la actividad replicativa residual (replicación viral existente por debajo de 50 Copias/mL) y de la replicación viral en reservorios. Se ha observado que el DNA proviral está asociado con la viremia residual y con la viremia intermitente, los cuales podrían incrementar el riesgo de falla inmunológica (descenso de CD4s) y virológica, así como el desarrollo de resistencia.<sup>25-29</sup>

## **2. PROBLEMA**

### **2.1 PROBLEMA GENERAL**

Cómo es la respuesta inmunológica al tratamiento antirretroviral en la cohorte de pacientes VIH positivos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) que han recibido un esquema de tratamiento y que siempre mantienen niveles indetectables del virus (<50 Copias/mL)? Cuál es la prevalencia de la respuesta discordante?

### **2.2 PROBLEMAS ESPECIFICOS**

1. Cuáles son los criterios para definir respuesta discordante a TARAA?
2. Cuales son las características demográficas y los factores de riesgo que pudieran estar relacionadas con respuesta discordante a la terapia?
3. Es la viremia residual la explicación a la presencia de respuesta discordante?

## **3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **3.1.1 OBJETIVO GENERAL**

a. Determinar la prevalencia de respuesta discordante a TARAA en la cohorte de pacientes del INCMNSZ.

### **3.1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- a. Definir los criterios para considerar una respuesta discordante y comparar con aquellos usados en cohortes internacionales.
- b. Identificar las características demográficas y los factores de riesgo para el desarrollo de discordancia.
- c. Identificar las comorbilidades y la tasa de hospitalización en los pacientes con respuesta discordante.
- d. Determinar la capacidad replicativa residual mediante la utilización de técnicas supersensibles que permitan medir el nivel de carga viral menor a 50 Copias/mL y establecer su relación con el incremento de CD4s.

## **3.2 HIPÓTESIS**

### **3.2.1 GENERAL**

1. Respuesta discordante a TARAA es un fenómeno común en los pacientes del INCMNSZ, que se presenta en más del 30% de los pacientes tratados.

### **3.2.2 ESPECÍFICAS**

1. Si existe una respuesta discordante a TARAA, entonces se presenta en más del 30% de los pacientes tratados.
2. La respuesta discordante se define como el pobre incremento de las cifras de células T-CD4+ ( $\leq 75$  células en el primer año) y la prevalencia es igual que lo establecido en las cohortes internacionales.
3. La respuesta discordante está asociada a mayor edad y nivel de carga viral, así como a la menor cuenta de CD4s al inicio de TARAA.
4. Los pacientes con respuesta discordante tienen mayor índice de hospitalizaciones y de infecciones oportunistas que aquellos pacientes con adecuada reconstitución inmune.
5. La discordancia inmunológica está relacionada con el tipo de TARAA utilizado.
6. Los pacientes discordantes tienen mayor viremia residual durante el curso de la terapia.

## **4. JUSTIFICACION**

La respuesta discordante a TARAA en pacientes infectados con VIH es un fenómeno común con una incidencia variable que depende de los criterios utilizados para la clasificación de los pacientes.<sup>1,2,4,5,11-21</sup> En la actualidad, no se conoce la prevalencia en la población mexicana y son escasos los datos con respecto a la población latinoamericana, así como, tampoco se conoce si otros factores como el acceso a

medicamentos y el tipo de terapia instaurada, podrían estar relacionados con la presencia de discordancia. Se han utilizado distintas definiciones de discordancia, con el objeto de identificar los factores relacionados y predictores de la respuesta inmune al TARA. Estas definiciones, se han basado de acuerdo a incrementos en la cuenta celular de CD4s desde 50 hasta 200 cel/mL, en los tiempos de seguimiento y en pacientes de características diferentes; impidiendo realizar una comparación entre ellas y establecer una definición aplicable en forma amplia.<sup>1,2,4,5,11-21</sup> Esto obliga a la búsqueda de una definición de discordancia para los pacientes de nuestro entorno que se pueda adaptar a nuestra realidad y que refleje los fenómenos inmunológicos inducidos por el tratamiento tanto en las fases tempranas como en las tardías.

Dadas las posibles repercusiones económicas y biológicas de las respuestas discordantes, consideramos necesario el conocimiento preciso de la respuesta al tratamiento en nuestra población y la identificación de los factores de riesgo que favorecen la presencia de discordancia.

Por otra parte, el virus es el responsable a través de mecanismos directos o indirectos de la pérdida de la inmunidad; los métodos rutinarios utilizados en la detección de la viremia, son una herramienta útil en el seguimiento de los pacientes infectados. Su importancia radica en el diagnóstico oportuno de la falla virológica y de la predicción en la progresión de la enfermedad.<sup>26,27</sup> Se conoce de la relación directa entre la mayor indetectabilidad (<20 Copias/mL) y el potencial de recuperación de los CD4s.<sup>30</sup> Por ende, sería importante conocer la existencia de viremia residual, al igual que el rol que desempeña en la falla inmune y viral. Para la detección de partículas virales por debajo del límite de 50 copias/mL, se requiere modificar la técnica estandarizada, tanto en los métodos de recolección de la muestra como en el procesamiento y extracción del RNA viral.<sup>31-33</sup>

## 5. ANTECEDENTES

El pronóstico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) depende del diagnóstico precoz y del inicio temprano de TARAA, disminuyendo así, la incidencia de infecciones oportunistas, la necesidad de hospitalización, con lo cual se mejora la calidad de vida en los pacientes infectados.<sup>1-10</sup> Los beneficios de TARAA son secundarios a la supresión de la actividad replicativa del virus y a la reversión parcial de las alteraciones inmunológicas inducidas por el VIH.<sup>22</sup> TARAA, ha reducido en forma dramática la mortalidad relacionada con el SIDA, de tal forma que en los primeros años de la epidemia esta oscilaba en 56% y en la actualidad se conoce que la mortalidad del SIDA en aquellos pacientes tratados es del 5 al 12%.<sup>1-7</sup>

**Efectos de TARAA en la CV y en los CD4s:** Al iniciar TARAA, se obtiene una rápida disminución en la CV que obedece al bloqueo en la generación de nuevas partículas virales y al recambio de los CD4s infectados. Posteriormente, ocurre el bloqueo de virus proveniente de los santuarios y de las células longevas. De esta forma se pueden lograr y mantener niveles indetectables de virus en plasma. A pesar de esto, aún en pacientes indetectables es posible detectar bajos niveles de replicación viral en el plasma (viremia residual), así como en otros compartimientos (semen y secreciones cervicales). La fuente de esta viremia residual, podría ser la liberación de los virus provenientes de los santuarios que escapan a la presión ejercida por TARAA.<sup>22,34</sup>

En forma simultánea al bloqueo de la replicación viral se inicia un incremento bifásico de los CD4s, así:

- a). La primera fase, ocurre durante las primeras 8-12 semanas, con incremento de las células de memoria (CD45RA-CD45RO+), en menor proporción también aumentan la población de células vírgenes (CD45RA+ CD62L+). Esta fase es debida a la redistribución celular desde los ganglios linfáticos. Típicamente, en esta etapa los

CD4s incrementan entre 50-120 cel/mL y tienen una relación inversa con el grado de activación inmunológica.<sup>22, 34-45</sup>

b). La segunda fase: es caracterizada por el estable incremento del número de células CD4s vírgenes y de memoria. En esta etapa, se ha estimado un aumento en la cuenta celular de CD4s entre 2-7 cel/mL por mes, lo cual depende de la eficiencia de TARAA en mantener la supresión viral.<sup>22, 34-45</sup>

En la actualidad se desconocen las razones por las cuales la ganancia de células CD4s no siguen una tendencia lineal durante el curso del tratamiento.<sup>1-10,22-24,34-45</sup> La mayoría de los pacientes que reciben tratamiento antirretroviral logran estabilizar el conteo celular, este fenómeno es conocido como la meseta de CD4s o el “techo inmunológico”<sup>2</sup> Este nivel de meseta es alcanzado durante los primeros 4-5 años de tratamiento, siendo significativamente menor a los niveles pre-infección.<sup>13</sup> Es de resaltar que los niveles de CD4s se mantienen estables en presencia de TARAA, y al suspender la terapia, ocurre una rápida disminución de los mismos.<sup>46,47</sup>

#### **Tipos de respuesta a TARAA:**

Para obtener los incrementos en las cuentas celulares de CD4s y lograr la supresión viral se requiere de la adecuada adherencia al tratamiento.<sup>14</sup> Sin embargo, solamente el 40-60% de los pacientes que reciben TARAA presentan estos beneficios, 12-23% no alcanzan la respuesta inmunológica ni la supresión viral y el 17-48%, obtienen uno de estos beneficios.<sup>21</sup> La respuesta discordante -supresión de la actividad viral sin reconstitución inmune- ha sido observada en el 30-36% del total de pacientes bajo tratamiento y 7-15% presentan respuesta paradójica, es decir, incremento de CD4s y falla virológica.<sup>1-21</sup> Se ha establecido, que la respuesta discordante y la respuesta paradójica son factores predisponentes para la mortalidad asociada a la infección por el VIH.<sup>14,15</sup>

**Discordancia inmunológica:** No existe una definición de discordancia inmunológica que sea universalmente aceptada y que refleje los eventos fisiológicos de la reconstitución inmune tanto en las fases tempranas como en las fases tardías del

tratamiento. Por lo tanto, la frecuencia reportada en los estudios que han evaluado este fenómeno es diferente.<sup>1-21</sup> Estas diferencias en la definición pueden estribar en el tipo de población evaluada, en el tiempo de seguimiento (desde 6 meses hasta 5 años) y además en el límite de detección de la CV (<1000 a <50 Copias/mL). Las definiciones de discordancia inmunológica han variado desde incrementos desde 50 hasta 500 cel/mL en la cuenta celular de CD4s. Otros autores, han utilizado la ganancia de CD4s  $\geq 200$  cel/mL como la medida de la reconstitución inmune.<sup>21</sup>

La cohorte EuroSIDA<sup>1</sup>, reportó 29% de discordancia en 780 pacientes que iniciaron TARAA con CD4  $\leq 350$  cel/mL y que lograron CV  $\leq 500$  Copias/mL, durante un seguimiento de 27000 pacientes/año. Establecieron que el incremento de CD4s  $\geq 50$ , 55, 60, 65, 70 y 75 cel/mL durante el 6°, 8°, 9°, 10°, 11° y 12° mes respectivamente, corresponden a las cuentas celulares esperadas.

La cohorte Swiss<sup>2</sup>, con 293 pacientes utilizó un criterio diferente para determinar las fallas en la reconstitución inmune. Este estudio longitudinal con 5 años de seguimiento, definió la discordancia inmunológica como el nivel de CD4 <500 cel/mL con supresión virológica (CV <1000 Copias/mL). 36% de los pacientes evaluados no alcanzaron el nivel de CD4s esperado. Señalaron que la respuesta lograda durante los primeros 3-6 meses de la terapia refleja la capacidad del sistema inmune para reinstaurar el nivel de CD4s. Los investigadores de Swiss, también observaron que el 50% de los pacientes alcanzaron el “techo inmunológico” y la otra mitad presentaron constantes incrementos de CD4s.

La cohorte PISCIS<sup>12</sup> (España) y HOPS<sup>13</sup> (Jhons Hopkins), describieron los cambios en los niveles de CD4s en aquellos pacientes que tenían CV indetectable (<500 Copias/mL y <400 Copias/mL respectivamente), durante un seguimiento de 4 y 5 años respectivamente. Estratificaron la ganancia de CD4s de acuerdo al nivel preTARAA (<200, 201-350 y  $\geq 350$  cel/mL). Señalaron que en todos los subgrupos existía un incremento de CD4s durante el primer año de la terapia y posteriormente alcanzaron un nivel de meseta, luego del cual no se obtuvieron ganancias

significativas. Sin embargo, observaron que el incremento de CD4s es mayor en los pacientes que inician con CD4s más bajos, pero no logran igualar a las cuentas celulares de los pacientes que inician el tratamiento con CD4s más altos.

En una cohorte<sup>48</sup> de 265 pacientes drogadictos por vía intravenosa infectados con VIH, se observó respuesta discordante en el 16% y en el 21% respuesta paradójica. La adecuada respuesta inmune y viral fue definida como el incremento de 50 cel/mL o >500 cel/mL en los CD4s y el nivel de CV <1000 Copias/mL.

En 1527 pacientes vírgenes a tratamiento del British Columbia, Canadá,<sup>13</sup> se encontró adecuada respuesta inmune y discordancia inmunológica en el 11.7% y en el 15.4% respectivamente. Definieron como respuesta inmunológica un incremento de CD4s >50 cel/mL durante 6 meses de TARAA y respuesta virológica, el nivel de CV <500 Copias/mL.

Existen pocos datos de la respuesta inmunológica en los países en vías de desarrollo. La cohorte ART-LINC<sup>49</sup> evaluó este fenómeno en 1916 pacientes en Asia, África y Brasil, el 14% presentaron un incremento menor de 50 cel/mL en los primeros 6 meses de tratamiento con un límite de detección de la CV <500 Copias/mL.

**Factores relacionados con respuesta discordante:** Las respuestas discordantes dependen de la interacción de diversos factores relacionados con el virus, el huésped y el tratamiento.

Los factores relacionados con el huésped, incluyen: la relación directa entre la menor edad y el potencial de reconstitución del timo.<sup>50-52</sup> También se ha establecido la asociación con la cinética de CD4s pre-TARAA, aquellos pacientes con el nadir de CD4s más bajo y con un lento descenso del nivel de CD4s presentan retraso en la reconstitución inmunológica.<sup>10</sup> Se ha descrito, que los pacientes más inmunocomprometidos al momento de iniciar TARAA tienen mayores cambios en la cuenta celular de CD4s, al compararlos con quienes inician TARAA con un nivel de CD4s más elevado.<sup>12-13</sup>

La variabilidad genética es un posible modulador de la respuesta inmunológica, mutaciones en la glicoproteína-P ocasionan una baja concentración intracelular de inhibidores de proteasa (IPs) afectando el posterior incremento de CD4s,<sup>10</sup> polimorfismos del gen Fas y de su ligando que regulan la homeostasis de Interleucina-6 (IL-6) también afectan la reconstitución inmune.<sup>53</sup>

Los factores relacionados con el tratamiento pueden ser directos o indirectos, estudios recientes han demostrado que la mayor ganancia de CD4s se obtienen con IPs reforzados con ritonavir (IPs/r), los cuales inhiben la apoptosis y aumentan la vida media de los linfocitos; la combinación de los análogos nucleósidos de la transcriptasa reversa como estavudina y lamivudina también se asocia con la ganancia significativa de CD4s.<sup>54-56</sup>

El uso de zidovudina, zalcitabina en combinación con sulfas pueden tener un efecto mielotóxico, disminuyendo el número de CD4s. La combinación didanosina-tenofovir es linfotóxica y está contraindicada ya que interrumpe la síntesis del ADN.<sup>57,58</sup>

Desafortunadamente son pocos los estudios que han utilizado el mismo esquema antirretroviral durante largo tiempo y por ende no existen grandes comparaciones entre las diferentes opciones de tratamiento, por ejemplo, en la cohorte Swiss, el 70% de los pacientes cambiaron su esquema de tratamiento y estos cambios en la terapia se asocian a alteraciones en la supresión viral o en la reconstitución de CD4s.<sup>59</sup>

Los factores relacionados con el virus, se pueden dividir en efectos directos ocasionados por la citólisis y en efectos indirectos debido a la mimica molecular entre los componentes de la membrana celular del virus con las células del sistema inmune o por la desregulación tanto en la apoptosis como en el balance de citocinas.

A pesar del tratamiento, el virus conserva la actividad replicativa por debajo del límite de detección y al parecer este fenómeno contribuye a la falta de incremento y al descenso de los CD4s durante el tratamiento, por ende, no es solamente necesario definir el “techo inmunológico” sino también determinar mediante la utilización de técnicas supersensibles la presencia de viremia residual. Así de esta manera

podemos establecer la existencia del “techo virológico”. Es imperativo el estudio de la relación entre la viremia residual y el incremento constante de CD4s.<sup>29-32,60-62</sup> El 50 al 70% de los pacientes con CV <50 Copias/mL presentan viremia residual entre 3-50 Copias/mL y niveles de ADN proviral  $\geq 20$  Copias/ $10^6$  en células mononucleares de sangre periférica, asociándose con menor número de CD4s y CD8s.<sup>63</sup> Actualmente no existen medicamentos con contra el ADN ni con las formas virales presentes en los reservorios, pero maximizar la supresión viral es un punto crítico en la terapia que amerita mayor investigación.<sup>29-32</sup>

La CV está directamente relacionada con el incremento de la apoptosis<sup>64-70</sup> y con la producción de interleucinas<sup>71-72</sup>, estos a su vez tienen una inversa relación con el incremento de CD4s.

IL-2 incrementa la población de CD4s sin incrementar la viremia plasmática, similar efecto ha sido observado con IL-12, IL-13 e IL-15.<sup>72</sup>

IL-7 es sintetizada por las células estromales del timo y de la médula ósea. Existe correlación inversa entre los niveles de IL-7 y la cuenta de CD4s, in vitro IL-7 induce replicación VIH, incremento del ADN proviral, aumentando la susceptibilidad de linfocitos a la infección por VIH, sin embargo, estudios en animales han mostrado que su aplicación puede incrementar los niveles de CD4s y CD8s sin favorecer la replicación viral.<sup>72</sup> Los efectos de las citocinas deben ser estudiados en forma exhaustiva para que posteriormente sean aplicados a la población de pacientes infectados por VIH. Para el futuro se promueve su posible utilización en el escenario de infecciones oportunistas y de falla virológica.

## **6. MATERIALES Y METODOS**

### **6.1 DISEÑO**

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico, observacional y comparativo, basado en la revisión de expedientes clínicos, con la actualización de la CV utilizando métodos supersensibles, en una cohorte de pacientes diagnosticados con VIH, vírgenes a tratamiento, que recibieron TARAA y cuya CV remitió a niveles indetectables en sangre (<50 Copias/mL).

El estudio consta de dos partes: la primera consiste en una revisión retrospectiva de los expedientes clínicos analizando factores demográficos (edad, sexo, tiempo de inicio de TARAA, tipo de TARAA, etc), cinética de CD4s (CD4s pre-TARAA y todos los CD4s durante el tratamiento), respuesta virológica, con el objeto de establecer la definición y factores asociados a discordancia inmunológica.

La segunda parte, consiste de un corte transversal y en una selección al azar, se tomará una muestra de sangre previo consentimiento informado, en donde se realizará CV mediante la técnica ultrasensible que nos indique un límite detección <50 Copias/mL. En aquellos pacientes que se corrobore una CV menor de 50 Copias/mL se realizará en la misma muestra, una nueva detección a través de la técnica supersensible con el fin de detectar partículas virales desde 1 Copia/mL.

### **6.2 POBLACION**

Pacientes con diagnóstico de infección por VIH que iniciaron TARAA hace más de 1 año y en seguimiento en la clínica de SIDA del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición "Salvador Zubirán" (INCMNSZ).

### **6.3 LUGAR DE ESTUDIO**

El estudio se llevó a cabo en un solo lugar, el Departamento de Infectología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, "Salvador Zubirán", en la Ciudad de México. Se trata de una Institución de Tercer Nivel de Atención donde se encuentra un Centro de Referencia para los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

#### **6.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

1. Diagnóstico de infección por VIH con tiempo de seguimiento >1 año.
2. Información completa de CD4s.
3. CV indetectable (<50 copias/MI) durante el seguimiento.
4. Edad  $\geq 18$  años.

#### **6.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

1. Más de 1 esquema antirretroviral con respecto a Ips vs INNTR (Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa).
2. Suspensión del tratamiento  $\geq 7$  días en cualquier momento durante su evolución.

#### **6.6 VARIABLES**

1. Variable dependiente: Discordancia inmunológica.
2. Variables independientes: Edad, sexo, infecciones oportunistas previos al inicio de TARAA, tipo de TARAA utilizado, infecciones oportunistas posteriores al inicio de TARAA, hospitalizaciones posteriores al inicio de TARAA, nivel de CD4s, CD8s y CV durante la infección.

Definición de las variables:

- a. Discordancia inmunológica: se refiere al pobre incremento de la cuenta celular de CD4s durante TARAA.
- b. Edad: tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del inicio de TARAA.
- c. Sexo: género al nacer.
- d. Infecciones oportunistas previas a TARAA: presencia de eventos B o C según el CDC que ocurrieron previos al inicio de TARAA.
- e. Tipo de TARAA utilizado: Descripción del esquema de antirretrovirales utilizado en el paciente durante su evolución clínica.
- f. Infecciones oportunistas posteriores al inicio de TARAA: presencia de eventos B o C según el CDC que ocurrieron posteriores al inicio de TARAA.

- g. Hospitalizaciones: presencia de hospitalizaciones que ocurrieron posterior al inicio de TARAA y que además tienen relación directa con la infección por VIH, se descartaron aquellos episodios relacionados con toxicidad por medicamentos entre otros.
- h. Viremia intermitente: Cuantificación de los episodios de viremia por arriba del límite de detección que ocurrieron en el transcurso del tratamiento pero que se acompañaron por una carga viral posterior <50 Copias/mL y sin cambio en la terapia.
- i. Tiempo entre el diagnóstico e inicio de tratamiento: Es el tiempo transcurrido en días entre la fecha de la primera serología para VIH reactiva y el inicio de TARAA.
- j. Tiempo entre el inicio de tratamiento y la primera carga viral indetectable: es el tiempo transcurrido en días entre el inicio de TARAA y la fecha de la primera carga viral indetectable (<50 Copias/mL).
- k. Tiempo entre el inicio de tratamiento y el máximo pico de CD4: es el tiempo transcurrido en meses entre el inicio de TARAA y la fecha del máximo nivel de CD4.
- l. Tiempo de seguimiento: Es el tiempo transcurrido en años entre el inicio de TARAA y la fecha de la última consulta.
- m. CD4 basales: es el número absoluto de CD4s en cel/mL previo al inicio de TARAA.
- n. CD4 primer, segundo, tercer, cuarto y quinto año: es el número absoluto de CD4s en cel/mL en cada año de seguimiento clínico.
- o. CD8 primera consulta: es el número absoluto de CD8s en cel/mL previo al inicio de TARAA.
- p. Carga viral supersensible: son las copias por mL presentes por debajo del límite de detección de 50 copias/mL.
- q. Desenlace: pacientes vivos, muertos o perdidos del seguimiento en la clínica.

## **6.7 PROCEDIMIENTOS:**

### **6.7.1 POBLACION DE PACIENTES**

Todos los pacientes eran vírgenes a tratamiento con seguimiento clínico en el INCMNSZ. La información demográfica, clínica y conteo de CD4s y CD8s, así como la detección de carga viral fue recolectada en forma retrospectiva de la base de datos y de la revisión de los expedientes clínicos.

TARAA fue definida como la terapia con 3 o más antirretrovirales. Se enfatizó en la respuesta inmunológica y virológica.

Los pacientes estudiados alcanzaron niveles de CV <50 copias/mL y mantuvieron la supresión virológica durante el seguimiento. La presencia de viremia intermitente fue también analizada.

Para observar las diferencias en la reconstitución inmunológica en presencia de supresión viral, se incluyeron pacientes con tiempo de seguimiento >1 año.

Todos los pacientes requerían tener cuenta de las células CD4s previo a TARAA y en el período entre el inicio de TARAA y los años subsiguientes. En aquellos que presentaban más de una medición se tomó solo aquella que estaba más cercana al período a evaluar (pre-TARAA, 1 año y subsiguientes). Se analizaron los niveles en números absolutos. Para los CD8s solo se analizaron los niveles previos a TARAA y el de la última consulta. Las cuentas celulares fueron seleccionadas con una ventana de  $\pm 2$  meses.

Los niveles de CD4s y CD8s fueron realizados con técnicas estandarizadas de citometría de flujo y la carga viral por COBAS Amplicor v1.5, Roche Diagnóstica.

De los pacientes del estudio se tomaron al azar 39 muestras para evaluar mediante técnicas supersensibles presencia de virus por debajo del límite de detección y su relación con los niveles de CD4s.

#### **6.7.2 PROCEDIMIENTO PARA REALIZACIÓN DE CV SUPERSENSIBLE<sup>32,33</sup>:**

1.- Toma de muestras: Se colectaron 3 tubos de 4cc con anticoagulante EDTA-K2 de sangre total. Posteriormente se centrifuga a 2500-3000 r.p.m. durante 15 minutos a temperatura ambiente, luego se separa el plasma.

2.- Almacenamiento de muestras:

Se congelan a  $-70^{\circ}\text{C}$  en alícuotas de 2 mL en tubo con tapa con rosca hasta procesar.

3.- Protocolo de detección de CV por debajo de 50 copias/mL:

- a. Descongelar muestra a Temperatura ambiente.
- b. Centrifugar plasma a 23600 r.p.m por 2 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ . (modificación de la técnica).
- c. Quitar sobrenadante.
- d. Agregar 600  $\mu\text{L}$  de buffer de lisis (previamente preparado) y mezclar; incubar 10 minutos a temperatura ambiente. El buffer de lisis contiene 25  $\mu\text{L}$  del estándar de cuantificación (QS) para la versión ultrasensible, en este método se utilizan 12.5  $\mu\text{L}$  del QS. (modificación de la técnica).
- e. Agregar 600  $\mu\text{L}$  de isopropanol al 100%, mezclar y centrifugar durante 15 minutos a 14000 r.p.m. en temperatura ambiente, luego se retira el sobrenadante y se agrega 1mL de etanol al 70%. Posteriormente se mezcla.
- f. Centrifugar a 14000 r.p.m por 5 minutos a temperatura ambiente.
- g. Retirar sobrenadante con pipeta de transferencia.
- h. Con mucho cuidado retirar excedente de etanol y dejar secar con tubo abierto de 2 a 3 minutos.
- i. Agregar 50  $\mu\text{L}$  de buffer de dilución y resuspender vigorosamente. (modificación de la técnica, para la técnica estandarizada ultrasensible se utilizan 100  $\mu\text{L}$  del buffer dilución)
- j. Preparar reactivo (mastermix) de acuerdo al fabricante.
- k. Proceso de reverso transcripción (RT) y amplificación con reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el COBAS-AMPLICOR.<sup>73</sup> Este proceso consiste en la amplificación por RT-PCR, de una región altamente conservada del gen *gag* del virus del VIH, que se encuentra localizada desde la posición 789 a la posición 2290. De esta región se obtendrá un fragmento de 155 nucleótidos. Posteriormente a la generación de c-DNA y en presencia de un juego de

primers biotilados en el extremo 5' Terminal (SKCC1B y SK145), se realiza la PCR con la misma enzima utilizada para la RT (rTth polimerasa). Una vez generados los productos de PCR, el equipo agrega una solución de desnaturalización a estos amplicones para hibridarlos con las partículas paramagnéticas, que se encuentran recubiertas con la sonda específica para estos productos (SK 102) así como para el QS (CP 35). Con lavados se retiran los amplicones sin hibridización. Luego, el equipo agregará un conjugado de peroxidasa de rábano (avidin-horserodish-peroxidase) para unirse a la marca de biotina que tiene cada amplicon. Posteriormente el equipo agregará el sustrato (peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5' tetrametil-benzidino TMB) en cada una de las copas de la reacción. En presencia del peróxido de hidrógeno, las partículas de la peroxidasa de rábano unidos al complejo sonda-amplicon catalizan la oxidación del TMB para formar un complejo colorido, el cual será leído a una absorbancia de 660 nm. Todas las absorbancias obtenidas así como las diluciones serán agregadas a la fórmula para calcular el número de copias/mL.

- I. Cálculo de la cantidad de RNA-Copias/mL mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{(\text{Densidad Optica del VIH}) (\text{Factor de dilución})}{(\text{Densidad Optica del QS}) (\text{Factor de dilución})} \times (\text{Factor volumen muestra}=0.5) (\text{QS del lote})$$

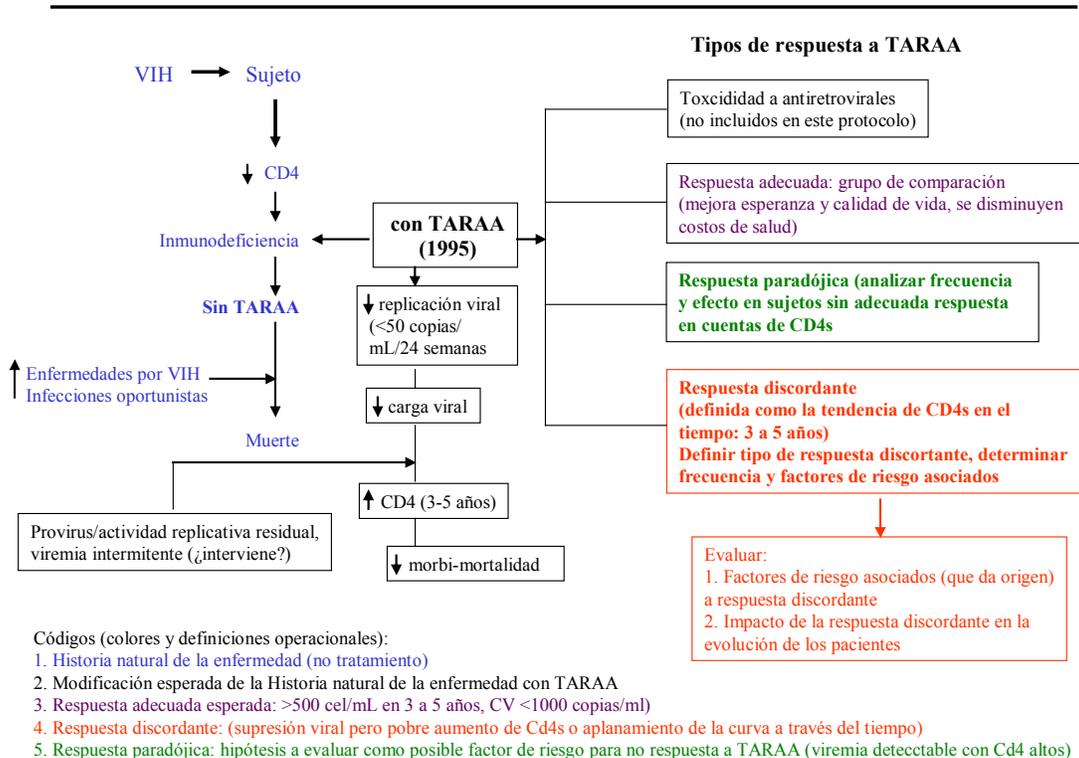
## 6.8 ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico STATA™ Special Edition, versión 8 (Stata Corporation, College Station, Texas.). Se realizó un análisis descriptivo de los datos utilizando medidas de tendencia central (media, mediana) y de dispersión (desviación estándar y rangos) para las variables de tipo cuantitativo. Los resultados de las variables de tipo cualitativo fueron expresados en porcentajes.

Se graficó la tendencia de los niveles de CD4s de acuerdo al tiempo de seguimiento y se ajustó la mejor línea de regresión para estos valores. Esto permitió clasificar a los

pacientes en dos grupos para su comparación: aquellos con niveles de CD4 con un incremento uniforme y constante, y aquellos que presentaron cualquier tipo de desviación a este incremento. En la figura 1 se muestra el marco conceptual del estudio.

**Figura 1.**  
Marco Conceptual



Para probar asociaciones entre variables se utilizaron la prueba de t de student o la U de Mann Whitney de acuerdo a la distribución de los datos cuantitativos, y la prueba de Chi-cuadrada o Exacta de Fisher en el caso de variables cualitativas nominales, ordinales o de clasificación.

Para determinar el efecto de diferentes variables de exposición sobre los niveles de CD4s en el tiempo, se utilizó el modelo de regresión lineal simple y multivariado con las especificaciones que se mencionan en los apartados correspondientes. Se

obtuvieron intervalos de confianza al 95% y un valor de  $P \leq 0.05$  (de dos colas) se consideró como estadísticamente significativo

## **7. ASPECTOS ETICOS:**

Para la primera fase del estudio por tratarse de un estudio retrospectivo, donde la información se obtuvo de los expedientes clínicos y de la base de datos de la clínica de SIDA del INCMNSZ no fue necesario solicitar consentimiento informado.

Para la segunda fase se realizó consentimiento informado, informándose a los pacientes sobre el procedimiento de la toma de muestra y sobre los objetivos del estudio.

Este consentimiento fue aprobado previamente por el comité de investigación biomédica en humanos, el día 25 de septiembre de 2006 con el número de referencia 1615. Los resultados de la CV supersensible fueron proporcionados al médico tratante.

## 8. RESULTADOS

**Descripción de la población:** Se revisó la base de datos desde el 1° de enero de 1996 hasta el 31 de julio del 2005. 226 pacientes reunían los criterios de inclusión pero 27 no tenían datos de la cuenta de células CD4s basales y fueron excluidos. Se obtuvieron los expedientes clínicos de 199 pacientes para el análisis.

De los 199 pacientes, 177 (89%) fueron del sexo masculino y 22 (11%) del sexo femenino. La edad de los pacientes varió entre 19 y 77 años, con una edad promedio en años de 38 (D.E.  $\pm 10.7$ ) y una mediana de 36. En la Tabla 1, se muestra la clasificación de los pacientes de acuerdo al Centro de Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de Norteamérica, y la distribución según el año de inicio.

**TABLA 1. Distribución de los pacientes según la clasificación del CDC y el año de inicio de TARAA.**

Clasificación según el CDC	1996-2000 Número (%)	2001-2005 Número (%)	p
A	19 (9.5)	79 (39.7)	0.195
B	10 (5)	33 (16.6)	
C	6 (3)	52 (26.1)	
Total	35 (17.5)	164 (82.4)	

El tiempo entre el diagnóstico de la infección por VIH y el inicio de TARAA se reportó en 178 (89%) pacientes. El lapso de tiempo más corto fue de 12 días y el más largo de 6120 días (16.8 años), con un promedio de  $618.7 \pm 1078$  días, y una mediana de 152.5 días. La única ruta de transmisión de la infección fue la vía sexual (datos no mostrados). Por definición todos los pacientes debieron de contribuir por lo menos con un año de seguimiento para ser incluidos en el estudio. En promedio el tiempo de seguimiento en años para todos los pacientes (199) fue de  $3.18 \pm 1.85$ , con una mediana de 2.8. El tiempo total (suma de cada uno de los tiempos con el que contribuyeron estos pacientes) del estudio fue de 579 años de seguimiento. En la tabla 2 se presenta el tiempo de seguimiento con su respectivo número de pacientes.

**TABLA 2. Número de pacientes por cada año de seguimiento.**

Años de seguimiento	Número de pacientes	Porcentaje
1	199	100
2	141	70.8
3	98	48.7
4	61	30.6
5	42	21.1
6	20	10
7	8	4
8	2	1
9	2	1

Durante el tiempo de seguimiento, 2 (1.01%) sujetos fallecieron, 38 (19.1%) se perdieron durante el seguimiento, y 159 (79.9) permanecían vivos hacia el final del período del estudio.

Un total de 98 (49%) pacientes contribuyeron con 3 o más años de seguimiento. Solo estos sujetos se incluyeron en el análisis de tendencia de CD4s en el tiempo.

Las infecciones oportunistas previas a TARAA se clasificaron de acuerdo al tipo de infección, debido a que el número de eventos por patógeno es muy limitado. Ver Tabla 3.

**Tabla 3. Infecciones oportunistas previas a TARAA.**

Tipo de infección	Número de eventos(%)
Bacterianas	4 (2)
Micóticas	14 (7)
Micobacterianas	8 (4)
Virales	20 (10.1)
Otras	13 (6.5)
Total	59 (29.6)

Solo se utilizará la variable “infecciones oportunistas” en los análisis de asociación y de regresión múltiple.

En 90 pacientes se midió la carga viral previa al inicio de TARAA. De los pacientes con carga viral durante la primera consulta, 50 (55.6%) tuvieron  $\geq 75000$  Copias/mL, mientras que 40 (44.4%) tuvieron  $< 75000$  Copias/mL. Esta variable, de tipo

cualitativo nominal, será la que se utilizará en análisis subsiguientes. Un total de 19 (9.5%) pacientes fueron hospitalizados durante el seguimiento del estudio.

**Valores basales de CD4s y CD8s:** en 199 pacientes se reportó el nivel inicial absoluto (cel/mL) de CD4s con una media de 196.9 (DE 146.9) y mediana de 176 (1-912); y en 109 los valores absolutos de CD8s, los cuales tenían una media de 814.63 (DE 419.3) y mediana de 790 (91-3122). Ver Tabla 4.

El coeficiente de correlación entre los CD4s y los CD8s al inicio del estudio (tomadas ambas como variables cuantitativas absolutas) fue de 17% ( $p=0.06$ ), es decir, existe una pobre correlación entre ambas cuentas celulares.

**Tabla 4. Valores basales de CD4s y CD8s (cel/mL)**

Parámetro	CD4 (n=199)	CD8 (n=109)
Media $\pm$ desviación estándar	196.9 $\pm$ 146.9	814.63 $\pm$ 419.3
Mediana (valor min, valor max)	176 (1, 912)	790 (91, 3122)
Distribución percentilar:		
1%	4	104
5%	12	160
10%	32	319
25%	95	548
50%	176	790
75%	271	1041
90%	376	1289
95%	470	1347
99%	670	1803

En la literatura médica internacional se ha reportado que un valor absoluto de aproximadamente  $<200$  cel/mL aumenta el riesgo de infecciones oportunistas. De los 199 pacientes con valores para CD4s, 112 (56.3%) tuvieron  $<200$  CD4s al inicio del estudio y 87 (43.7%) pacientes tuvieron una cuenta celular de igual o mayor a 200 CD4s. En la tabla 5 se enlistan las características asociadas a estos dos grupos de pacientes.

En los pacientes con cuentas de CD4s iniciales <200 cel/mL fue más común encontrarles con cargas virales  $\geq 75000$  Copias/mL y con mayor prevalencia de infecciones oportunistas. La distribución de la edad, del género y de las cuentas de CD8s (como variable cuantitativa) fue similar entre ambos grupos. El tiempo entre el diagnóstico e inicio de TARAA fue significativamente mayor en el grupo con CD4s mayores de 200 cel/mL. Debido a que existen asociaciones estadísticamente significativas entre las cuentas iniciales de CD4s y las características ya mencionadas de los pacientes, se deberá descartar el papel de estas variables como posibles confusores e interactores (análisis multivariado).

**TABLA 5. Características demográficas y clínicas de acuerdo al nivel de CD4s basal en cel/mL (<200 o  $\geq 200$ ).**

Característica	$\geq 200$ Cd4s (n=87)	<200 Cd4s (n=112)	p
Edad (años) Media $\pm$ D.E. Mediana (rango)	37.7 $\pm$ 10.3 35 (19-67)	38.8 $\pm$ 10.1 36 (19-77)	0.27*
Sexo (%) Masculino	80 (91.9)	97 (86.6)	0.23†
Clasificación CDC A B C	62 (71.3) 16 (18.4) 9 (10.3)	36 (32.1) 27 (24.1) 49 (43.8)	0.000†
CD8s basales Media $\pm$ D.E. Mediana (rango)	n=36 859.4 $\pm$ 289 808 (104, 1384)	n=73 792.6 $\pm$ 471 754 (91, 3122)	0.15*
Tiempo entre diagnóstico e inicio de TARAA (días) Media $\pm$ D.E. Mediana (rango)	n=79 650.9 $\pm$ 1099.8 204 (16, 6120)	n=99 592.9 $\pm$ 1066.26 129 (12, 4676)	0.06*
Carga viral (Copias/mL) $\geq 75000$	n=43 19 (44.2)	n=47 31 (66.0)	0.04†
Infecciones oportunistas previas‡ (%)	13 (14.9)	29 (25.9)	0.07†

- \*Prueba U Mann-Whitney
- † Prueba de Chi-cuadrada
- ‡ Incluye la suma de infecciones por bacterias, hongos, virus, micobacterias y otros.

### Características del tratamiento administrado:

La combinación de los tratamientos administrados fue muy variable (39 posibles combinaciones). La mayoría de los pacientes recibieron esquemas de 3 medicamentos con múltiples combinaciones (180 pacientes). 19 (9.5%) pacientes recibieron 4 medicamentos (esquemas con IPs reforzados).

A pesar de los múltiples esquemas, 3 de ellos sobresalen en frecuencia: a) AZT+3TC+EFV en 85 (42.7%) pacientes; b) EFV+3TC+D4T en 42 (21.1%); y c) NFV+AZT+3TC en 11 (5.5%). Ver Tabla 6.

**Tabla 6. Tipo de TARA A utilizado.**

Combinación de medicamentos	Número de pacientes	Porcentaje
Esquema base:		
Ips*	25	12.56
IPs/r**	19	9.05
INNTR***	156	78.39
Uso de Zidovudina	126	63.3
Uso de Estavudina	56	28.14
Tipo de esquema utilizado:		
Efavirenz+Zidovudina+Lamivudina	85	42.7
Efavirenz+Estavudina+Lamivudina	42	21.1
IPs+Zidovudina+Lamivudina	33	16.5
IPs+Estavudina+Lamivudina	3	1
Otros	36	18

\*IPs/r: inhibidores de proteasa reforzados con ritonavir.

\*\*IPs: inhibidores de proteasa.

\*\*\*INNTR: inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa.

**Valores de CD4s durante el período del estudio:** En la tabla 7 se muestran todos los valores de CD4s con los que contribuyeron los pacientes en los diferentes tiempos del estudio.

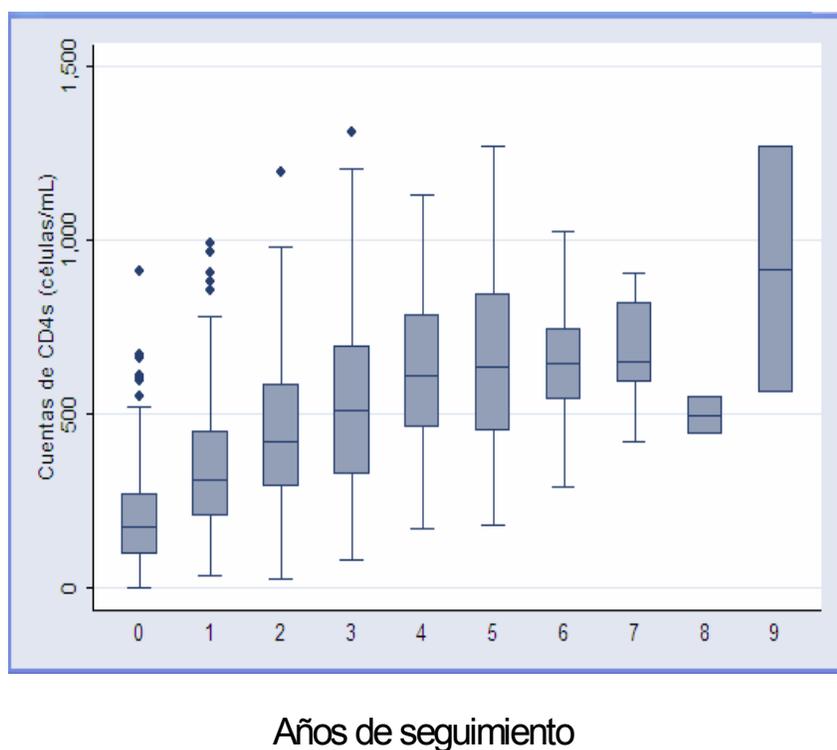
**Tabla 7. Valores de CD4s (cel/mL) durante el seguimiento.**

Tiempo (años)	Número de sujetos que contribuyen	Media $\pm$ DE	Percentil								
			1	5	10	25	50	75	90	95	99
1	199	340 $\pm$ 179	34	109	136	207	309	449	566	655	968
2	141	444 $\pm$ 206	102	130	197	290	422	586	710	763	982
3	98	528 $\pm$ 261	82	144	187	324	513	697	914	1017	1310
4	61	612 $\pm$ 251	171	211	285	460	609	788	932	1120	1133
5	42	648 $\pm$ 274	180	254	292	449	638	847	1005	1192	1272
6	20	659 $\pm$ 201	293	312	401	541	644	744	995	1020	1025
7	8	682 $\pm$ 162	420	420	420	592	653	821	908	908	908
8	2	496 $\pm$ 76	442	442	442	442	496	550	550	550	550
9	2	915 $\pm$ 502	560	560	560	560	915	1270	1270	1270	1270

La Figura 2, muestra el incremento progresivo de las cuentas de CD4s a lo largo del seguimiento para los 199 pacientes incluidos. Con la finalidad de determinar el incremento esperado de CD4s en el tiempo y la tendencia de este incremento, se utilizó un modelo de regresión lineal simple. El modelo mostró que la tendencia general del incremento en CD4s a través de los años de seguimiento es lineal, y que cada año se espera un incremento de 84.75 cel/mL (IC95 76.4-93.05; p=0.000).

Figura 2.

## Cuentas de Cd4s a través de tiempo de seguimiento



Tendencia general del incremento en CD4s para los 199 pacientes incluidos en el estudio

Sin embargo, este incremento se ve afectado de manera independiente por algunos factores presentes en el individuo al inicio del estudio (utilizando el modelo de regresión lineal múltiple que incorpora la información generada por 163 observaciones de los 199 individuos incluidos en el estudio). La tabla 8 muestra a continuación el efecto de estos factores sobre el incremento de los CD4s a través del tiempo.

**Tabla 8. Incremento ajustado de CD4s. (análisis multivariado).**

<b>Característica</b>	<b>Coefficiente de correlación (IC 95%)</b>	<b>p</b>
Tiempo de seguimiento	75.37 (61.94- 88.8)	0.000
CD4s basal <200 cel/mL	-168.03 (-229.9- -106.1)	0.000
Edad en años ≥40	-87.55 (-136.66- -38.45)	0.001
CD8s basales cel/mL <700	-71.24 (-123.4- -19.07)	0.008
Carga viral preTARAA Copias/mL ≥ 75000	-63.42 (-119.1- -7.7)	0.026
Clasificación CDC B vs A	-58.7 (-135.2- 17.7)	0.132
Clasificación CDC C vs A	-76.9 (-138.8- -15.02)	0.015
Intercepto	479.5 (423.4- 535.6)	0.000

R<sup>2</sup> del modelo = 66%

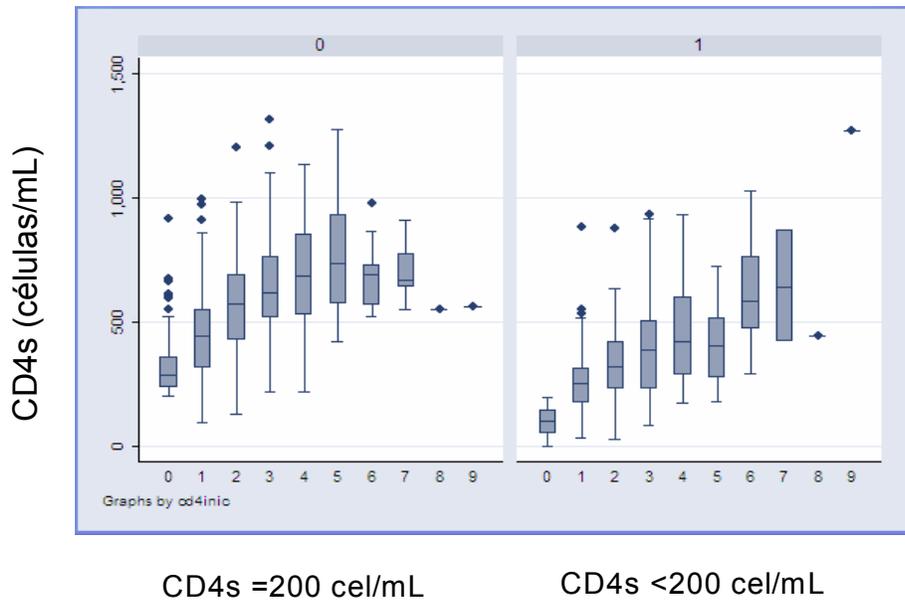
R<sup>2</sup> ajustada = 64%

F (7, 155) del modelo = 43.2, Probabilidad de F = 0.000

Una vez que se ha ajustado el modelo por todas las variables que le pueden afectar negativamente, el incremento de CD4 será solo de 75 cel/mL cada año, en lugar de 85 cel/mL (modelo lineal simple) cuando no se encuentran presentes estas variables. Como se puede observar todas las variables incluidas en el modelo afectan negativamente (le restan) el incremento de CD4s en el tiempo. Por ejemplo, el tener <200 CD4s al inicio del estudio hace que se disminuyan en promedio 168 células durante los 5 años de seguimiento. La figura 3 ilustra este ejemplo.

**Figura 3**

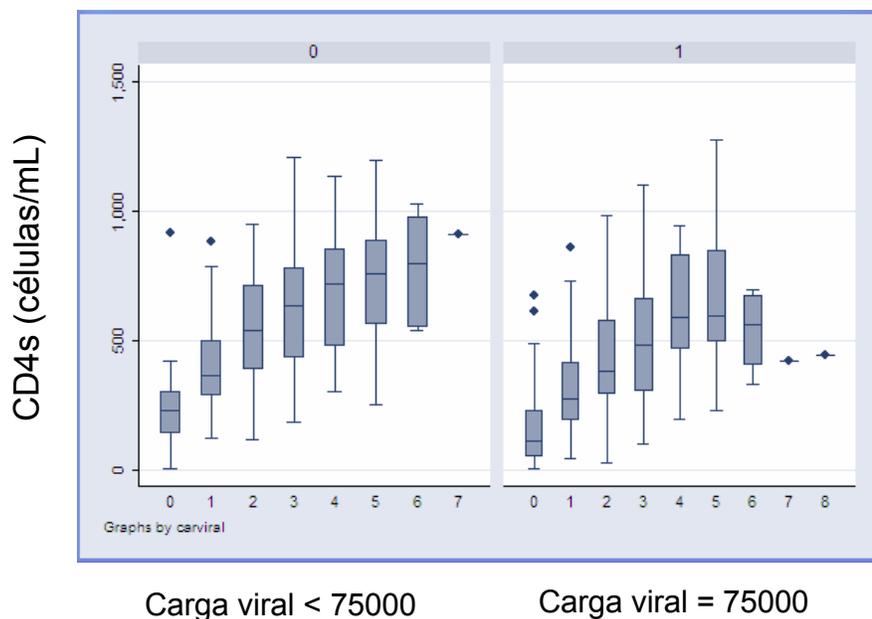
**Efecto del nivel de CD4s al inicio del estudio sobre la tendencia de CD4s en el tiempo**



Al tomar en cuenta la carga viral al inicio del estudio, el tener CV  $\geq 75000$  Copias/mL disminuye el incremento de CD4s a través del tiempo (- 63 cel/mL). Esto se muestra en la figura 4.

Figura 4

## Efecto de la carga viral inicial sobre la tendencia de los CD4s en el tiempo



De los 199 pacientes incluidos en este análisis, 37 (19%) presentaron viremia intermitente en algún momento del estudio. El rango de estas viremias fue de 52-2350 Copias/mL con una mediana de 98 y una media de 238 (DE  $\pm 438$ ).

### **Análisis de comparación entre los pacientes que responden adecuadamente y los que presentan una respuesta discordante.**

Para dar respuesta a este objetivo, se tomaron en cuenta los siguientes antecedentes: en un individuo “sano”, sin infección por el VIH o algún otro tipo de inmunodeficiencia, el valor de CD4s varía entre 800 y 1500 cel/mL (cerca del 40% de todos los linfocitos).

Un valor absoluto de aproximadamente 200 cel/mL, refleja un aumento en el riesgo de infecciones oportunistas. Diferentes estudios que han evaluado la respuesta a TARAA, han señalado que un número significativo de pacientes a pesar de tener supresión viral no logran incrementar la proporción de CD4s a 500 cel/mL después de 3 a 5 años de tratamiento. Por lo anterior, las definiciones operacionales para este objetivo incluyen aquellos pacientes con tiempos de seguimiento igual o mayor a 3 años (rango 3 - 9 años).

1. Respuesta adecuada:

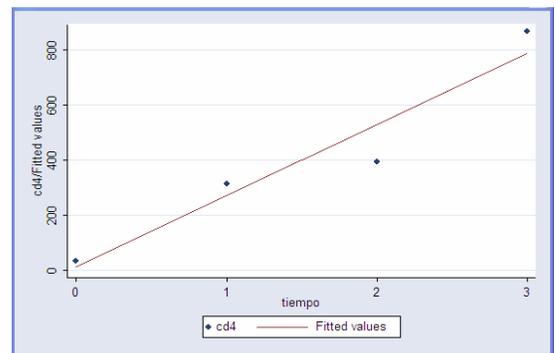
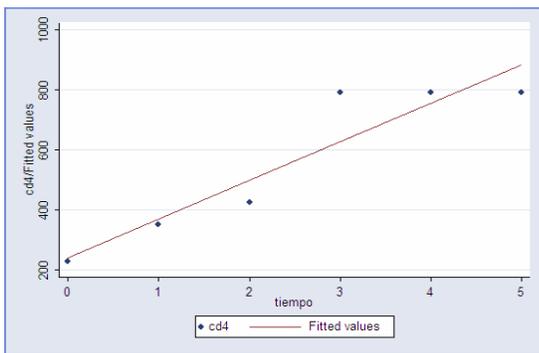
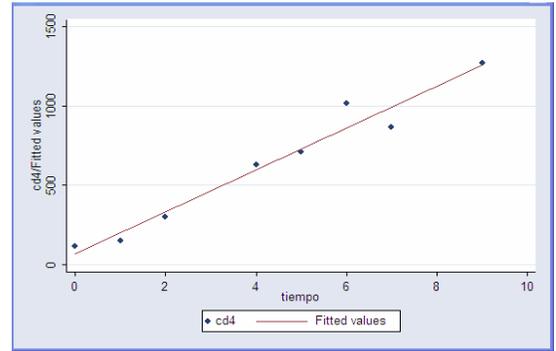
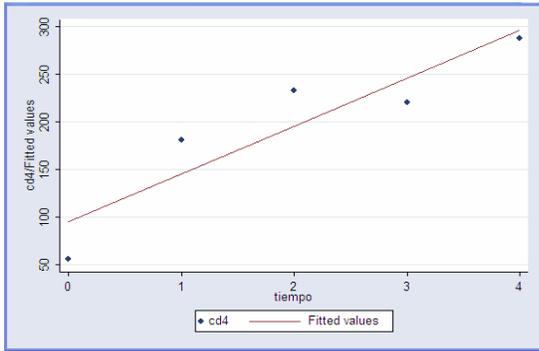
- a. Que alcancen un nivel  $\geq 500$  cel/mL entre los 3 y 5 años de seguimiento activo, con un incremento uniforme a través del tiempo.
- b. Un incremento uniforme de las cuentas absolutas de Cd4s a través del tiempo, independientemente del nivel de Cd4s que se alcance en el tiempo actual de seguimiento (esto debido a que algunos pacientes solo contarán con 3 años de seguimiento efectivo).

2. Respuesta discordante:

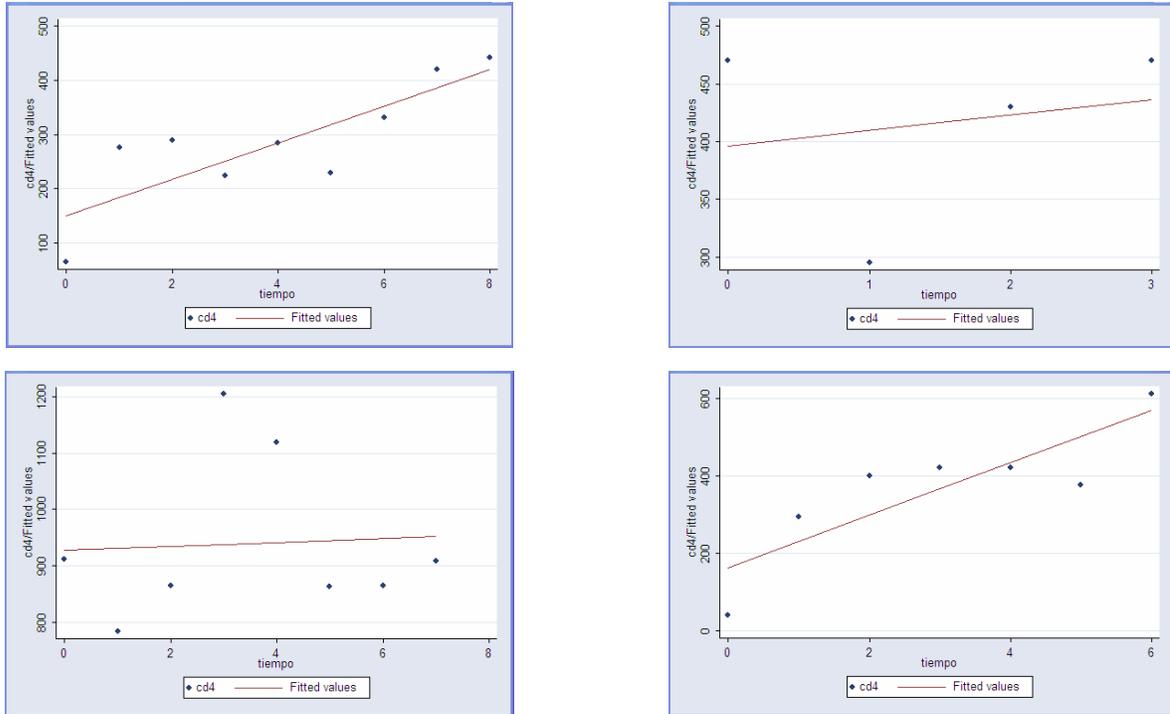
- a. Que no alcance un nivel  $\geq 500$  cel/mL entre los 3 y 5 años de seguimiento activo (solo sujetos con  $\geq 5$  años de seguimiento).
- b. Con un incremento no uniforme en las cuentas absolutas de CD4s.
- c. Que se presente un incremento en las cuentas absolutas de CD4s durante los primeros años y que posteriormente se presente una meseta (“techo inmunológico”).
- d. Decremento de las cuentas absolutas de CD4s durante el tiempo de seguimiento.

Figura 5.

## Ejemplos de respuesta adecuada



## Figura 6 Ejemplos de respuesta discordante

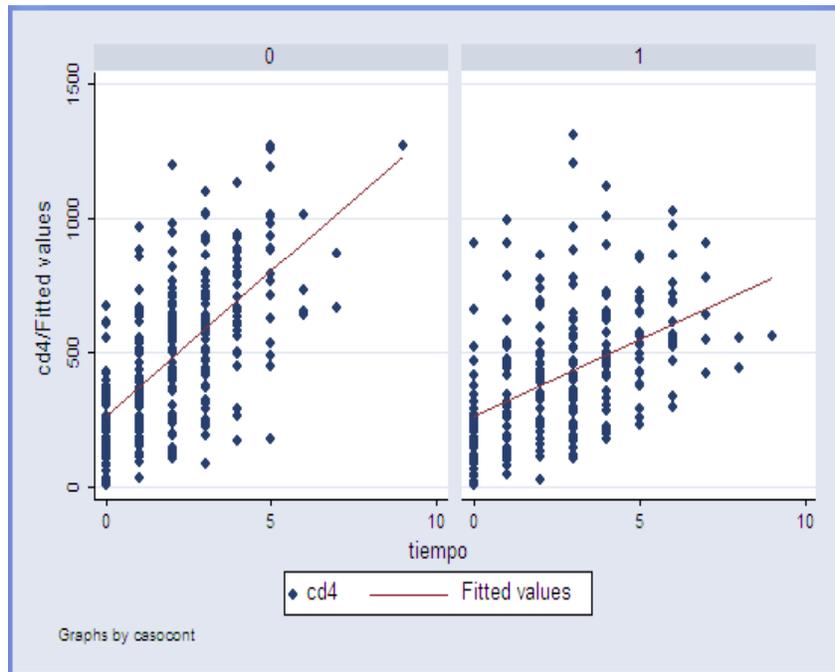


De acuerdo a estas definiciones, la frecuencia de cada uno de estos eventos fue de 59% (58 pacientes) para la respuesta adecuada y 41% (40 pacientes) para la respuesta discordante. En la figura 5 (respuesta adecuada) y figura 6 (respuesta discordante) se observan algunos ejemplos de estas respuestas.

La tendencia del incremento de CD4s según la definición de discordancia inmunológica se presenta en la figura 7.

Figura 7.

## Tendencia en el incremento de Cd4s de acuerdo a si la respuesta fue adecuada o discordante



Respuesta adecuada

Respuesta discordante

Ecuación de regresión:  $y_i = 263 + 108 x_i + e_i \sim N(0, \sigma^2)$

$y_i = 262 + 57 x_i + e_i \sim N(0, \sigma^2)$

Se puede observar que tanto en la gráfica como en la ecuación de regresión, el intercepto (la línea que atraviesa el eje "y") es igual para ambas situaciones (respuesta adecuada = 263, y respuesta discordante=262), sin embargo la pendiente es diferente: en el grupo con respuesta adecuada, el incremento de CD4s es de 108 cel/mL por año mientras que en la respuesta discordante esta ganancia es de solo 57 cel/mL por año ( $p= 0.000$ ). Es importante notar que a pesar de las variaciones que puede haber en los pacientes con respuesta discordante, la tendencia promedio del incremento de

Cd4s en el tiempo continúa siendo lineal pero, este incremento es 50% menor que en aquellos pacientes con respuesta adecuada por cada año de seguimiento.

**Factores asociados con discordancia inmunológica:** Se evaluaron los factores de riesgo para la ocurrencia de discordancia inmunológica. Se consideraron: edad ( $\geq 40$  años,  $< 40$  años), sexo (femenino, masculino), Cd4s iniciales ( $< 200$  cel/mL,  $\geq 200$  cel/mL), clasificación del CDC, (ver tabla 8), infecciones oportunistas previas a TARAA (Si, No), tratamiento administrado y viremia residual ( $< 50$  Copias/mL).

**Nivel basal de CD4s:** Se analizaron los CD4s basales por el método de regresión binaria logística, se observó que por cada 50 cel/mL menor al momento del inicio de TARAA existe un riesgo de 1.89 (IC 95 1.171-3.057  $p=0.009$ ) de permanecer con CD4s bajos ( $\leq P25$ ) durante el seguimiento.

**Infecciones oportunistas Pre-TARAA:** Infecciones oportunistas previas al inicio de tratamiento se presentaron en 11(64.7%) pacientes discordantes y en 6 (35.3%) con respuesta adecuada ( $p=0.033$ ).

**Viremia intermitente:** En cuanto a la ocurrencia de viremia intermitente no se observó una asociación estadísticamente significativa ( $p=0.19$ ).

**Tipo de TARAA:** La hipótesis a considerar fue que los pacientes con respuesta discordante usan con menor frecuencia IPs o IPs/ o bien, que los pacientes tratados con INNTR (Efavirenz) presentan con mayor frecuencia una respuesta discordante. En la tabla 9 se describe la relación entre el tipo de TARAA y la discordancia inmunológica.

**TABLA 9. Relación entre el tipo de TARAA y la respuesta inmunológica.**

Tipo de tratamiento	Tipo de respuesta			p
	Adecuada (n=53)	Discordante (n=38)	Razón de momios (IC 95%)	
INNTR*	43 (55%)	35 (45%)	1.39 (0.56-3.44)	0.62
Ips**	10 (77%)	3 (23%)		

\*INNTR: inhibidor no nucleósido de la transcriptasa reversa.

\*\*Ips: inhibidor de proteasa o inhibidor de proteasa reforzado con ritonavir.

No se observa una asociación estadísticamente significativa entre la discordancia inmunológica y el tipo de TARAA.

**Relación entre la discordancia inmunológica y la CV supersensible:** La búsqueda de CV supersensible fue realizada en 37 pacientes (15 discordantes y 22 con respuesta adecuada ver Tabla 10). No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la CV y la discordancia inmunológica.

De los 98 pacientes que completaron 3 años de seguimiento en 26 de ellos se realizó detección de la CV supersensible, con una distribución del 50% de la muestra en cada grupo (adecuada vs discordante).

Tabla 10. Relación entre la discordancia inmunológica y la CV supersensible (Copias/mL)			
Tipo de respuesta	Media (DE)	Mediana (Min-Max)	p
Discordantes n=15	17.27 (35.46)	0 (0-103)	0.430
Adecuada n=22	42.3 (73.57)	1 (0-238)	

En todos los pacientes se pudo detectar la actividad replicativa residual del virus (Copias/mL). Se observó en los pacientes con respuesta discordante una media de 17.27 (35.46), con una mediana de 0 (0-103) y en los pacientes con respuesta adecuada una media de 42.3 (73.57) con una mediana de 1 (0-238) ( $p=0.519$ ).

**Impacto clínico:** De los 98 pacientes con 3 años de seguimiento la tasa de hospitalización y de eventos relacionados a SIDA posterior al inicio de TARAA no fue estadísticamente diferente entre los grupos. Ver tabla 11.

<b>Tabla 11. Incidencia de hospitalizaciones y eventos B o C pos-TARAA.</b>			
	Discordantes n=40 N y %	Adecuada n=58 N y %	p*
Hospitalizaciones	2 (5)	6 (10.34)	0.466
Eventos B o C	3 (7.5)	6 (10.34)	0.459

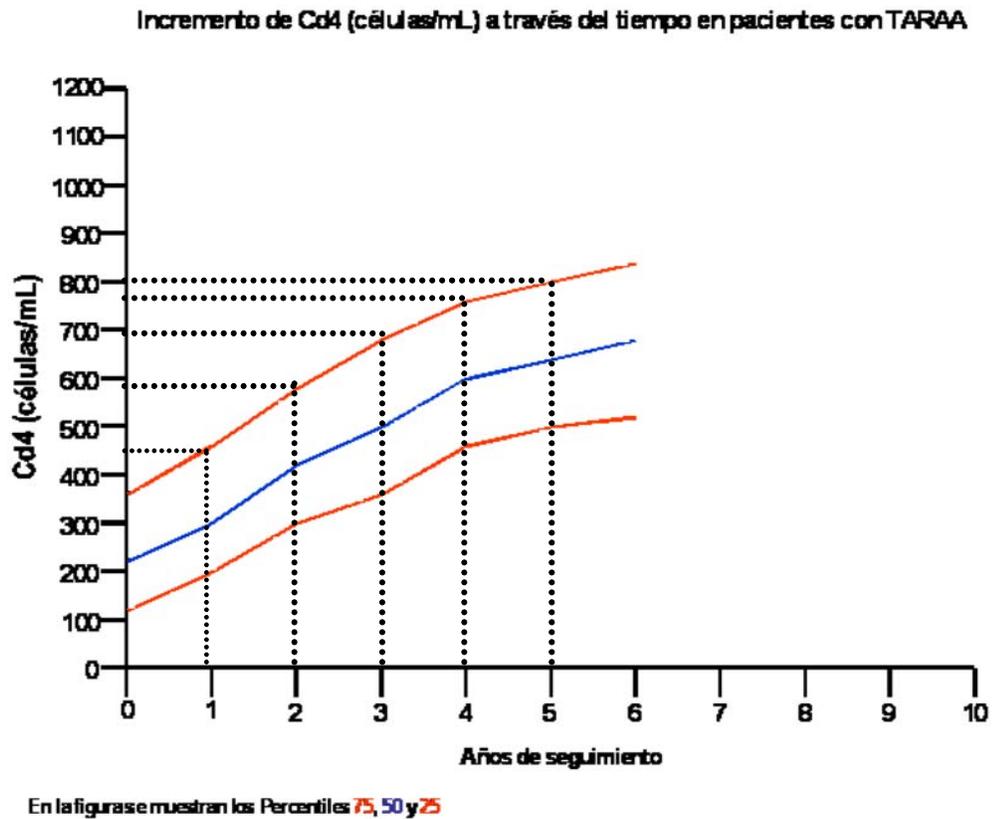
\* Prueba exacta de Fisher's.

**Gráfica de predicción de discordancia inmunológica para los pacientes con VIH**

**y TARAA:** Uno de los aportes prácticos de este trabajo de investigación es poder predecir el comportamiento del incremento de CD4s con respecto al tiempo de seguimiento en cada uno de los pacientes con VIH que reciben tratamiento con TARAA.

Como se observa en la gráfica (figura 8) el nivel de CD4s obtenido a través del seguimiento predice el valor en la próxima consulta. Esta gráfica se realizó de las observaciones del nivel de CD4s obtenido en los pacientes incluidos en este estudio. Se describe en medianas así como en P25 y P75.

Figura 8.



## 9. DISCUSION

Este estudio descriptivo retrospectivo, fue realizado en una población seleccionada de pacientes de un centro de referencia de México D.F. Los resultados de este estudio señalan, que aquellos pacientes con máxima supresión viral tienen incrementos constantes en su cuenta celular de CD4s por un período mínimo de 3 años (figura 1), lo cual ha sido descrito previamente en otras cohortes.<sup>1-5,11-21</sup> La ganancia de CD4s por cada año de seguimiento fue de 85 cel/mL, sin embargo, con el modelo de regresión lineal utilizado, este incremento fue dependiente del grado de inmunosupresión (nivel de CD4s y CD8s basal, clasificación C del CDC), de la CV preTARAA y de la edad al momento de iniciar TARAA (Tabla 8, Figura 2 y 3), de tal forma que al ajustar por cada uno de estos factores la ganancia de CD4s fue de 75

cel/mL. Este incremento en la cuenta celular de CD4s fue similar al descrito por EuroSIDA<sup>1</sup> para aquellos pacientes con adecuada respuesta inmune.

La edad,<sup>50-52</sup> la CV preTARAA<sup>1</sup> y el nivel de CD8s<sup>41,74</sup> están relacionados en forma respectiva con el potencial de reconstitución del timo, con la cantidad de virus presente que daña en forma irreversible el sistema inmune y con el grado de inmunosupresión. Se conoce que el potencial de reconstitución es diferente de acuerdo al nivel de CD4s basal.<sup>75-77</sup> Se observó, a través de un modelo de regresión binaria logística una inversa relación entre el nivel basal de CD4s y la probabilidad de permanecer por debajo del P25, a pesar del incremento continuo de los CD4s durante el seguimiento. En este estudio, también se encontró que la cuenta celular de CD4s basales <200 cel/mL tiene un efecto negativo sobre la reconstitución inmunológica, asociándose con un incremento menor en 168 cel/mL durante los primeros 5 años de seguimiento. Resaltando de esta manera la necesidad de iniciar TARAA en forma temprana.

En el presente estudio, la discordancia inmunológica fue definida como un incremento no uniforme en las cuentas absolutas de CD4s, así como la incapacidad para alcanzar un nivel de CD4s  $\geq 500$  cel/mL entre los 3 y 5 años de seguimiento activo. También se consideró como discordante, la presencia de un incremento en las cuentas absolutas de CD4s durante los primeros años y que posteriormente se presente una meseta (“techo inmunológico”) o el decremento de las cuentas absolutas de CD4s durante el tiempo de seguimiento. Se utilizó esta definición ya que permite evidenciar los eventos que ocurren en la población de CD4s tanto en las fases tempranas como en las tardías de TARAA. La evaluación de la respuesta discordante en los países latinoamericanos, es restringido a lo observado en Brasil<sup>49</sup>-publicado en la cohorte ART-LINC-. Donde el 14% de los pacientes bajo tratamiento, tenían respuestas discordantes. Las respuestas discordantes en países con pocos recursos podrían ser más elevadas ya que los pacientes inician TARAA en una fase más avanzada de la infección con menor nivel de CD4s. Crabtree y cols,<sup>78</sup> observaron que el 62% de

los pacientes al momento de la primera consulta tenían un evento clínico o CD4s basales <200 cel/mL (26.7% evento relacionado y 52.9% con CD4s <200). Con la definición empleada, se observó que la prevalencia de discordancia en pacientes que tenían tres años de seguimiento fue del 41%, siendo mayor que lo señalado por la cohorte ART-LINC. Estas diferencias resultan de los criterios utilizados en la definición y del tiempo de seguimiento en cada uno de los estudios. La principal dificultad para establecer el aumento esperado de éstas células es que se desconoce el nivel circulante previo a la infección. Sin embargo, la definición utilizada en este trabajo deberá ser validada en estudios prospectivos longitudinales en población de pacientes con características similares y en quienes el éxito virológico durante su seguimiento sea mantenido.

En el presente estudio, la mediana de los CD4s basales fue de 176 cel/mL (Rango Intercuartílico RIQ 95-271) análogo a lo encontrado tanto en la cohorte EuroSIDA<sup>1</sup> (195 RIQ 118-274) como en SWISS<sup>2</sup> (180 RIQ 60-311). Con la definición de discordancia utilizada (Figura 5,6 y 7), el incremento de CD4s en los pacientes discordantes durante cada año de TARAA fue de 57 cel/mL vs 108 cel/mL para el grupo concordante ( $p < 0.000$ ). Este resultado es diferente a lo reportado en EuroSIDA<sup>1</sup> y en SWISS,<sup>2</sup> donde el incremento de CD4s para los pacientes discordantes y para los respondedores fue de 22 cel/mL (RIQ -8-41) vs 154 (RIQ 103-245) y en 109 cel/mL vs 203 cel/mL, respectivamente. Es importante señalar que en la cohorte SWISS<sup>2</sup> se presentaron con menor incidencia los eventos oportunistas (15%) comparado con el 21% de la cohorte EuroSIDA<sup>1</sup> y del presente estudio. La menor activación inmunológica resultante pudiere ser la responsable de estas mayores ganancias en las células del sistema inmune. Sin embargo, estas diferencias también pudieren estribar en las características genéticas e individuales, así como en el inmunofenotipo predominante en las poblaciones evaluadas.

El tipo de TARAA utilizado ha sido descrito como uno de los factores relacionados con la magnitud de la respuesta inmunológica.<sup>54-58</sup> Sin embargo, no se observó una

tendencia de menor discordancia en aquellos pacientes que usan IPs o IPs/r, (Tabla 9). Se ha descrito que el uso de IPs conlleva a un mayor incremento de CD4s.<sup>54</sup> En esta cohorte el tamaño de la muestra limita esta observación y además tenían un tiempo corto de seguimiento. Se espera que aquellos pacientes que en la actualidad tienen un período de seguimiento de 1 o 2 años puedan conservar el primer esquema de tratamiento con el fin de poder evidenciar la tendencia y/o significancia de la relación entre el tipo de TARAA y la respuesta inmune.

También se observó, que durante el seguimiento no todos los pacientes tienen incrementos constantes de CD4s, por el contrario 35% de los pacientes analizados presentaron disminución en el número de CD4s desde -239 a -6 Cel/mL. Este fenómeno ya ha sido descrito en igual proporción de pacientes que reciben TARAA por más de 2 años; aunque las fluctuaciones poco significativas pueden ser producto de las variaciones estadísticas en las técnicas de laboratorio, en el 25% de ellos su cuenta celular desciende a tal magnitud, que no pueden ser explicadas por tal variabilidad.<sup>25</sup> Siendo difícil establecer si este descenso en la cuenta celular de CD4s es la causa o la consecuencia de la falla virológica y de la progresión de la infección, estos fenómenos enfatizan la importancia del continuo incremento de CD4s y de mantener en forma constante la supresión viral.

### **Viremia Residual**

Es ampliamente debatido el papel de la CV intermitente, algunos autores le confieren un relevante significado pronóstico y patogénico, otros por el contrario aducen que esta viremia intermitente son artefactos de la técnica.<sup>61</sup> En el presente estudio 37 pacientes presentaron viremia intermitente con una mediana de 98 Copias/mL (52-2350), no se encontró una asociación entre la aparición de la viremia intermitente y la discordancia inmunológica ( $p=0.19$ ).

Sin embargo, la discordancia inmunológica puede ser una consecuencia de la actividad citolítica resultante de la viremia residual. Esta viremia ha sido catalogada como un plausible mecanismo que refleja la evolución viral. Recientemente, Ostrowski

et al,<sup>81</sup> demostró que la replicación viral persiste a pesar de tener CV  $\leq 50$  copias/mL, y que la intensificación del TARAA conduce a reducción de la viremia con menor activación celular, lo cual se traduce en un incremento de CD4s. En el presente estudio, se realizó la carga viral por el método ultrasensible y luego de corroborar la indetectabilidad viral ( $< 50$  Copias/mL) se determinó el nivel de CV residual. En 37 pacientes se logró realizar la detección de CV con las modificaciones al método convencional. (Ver Tabla 10), la mayoría de ellos no tenían viremia residual. En los pacientes con viremia residual detectable, no se encontró relación con la discordancia inmunológica, con el nivel de CD4s basales ni con el tipo de terapia utilizada. Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a lo reportado por Havlir y cols<sup>32</sup>. Las diferencias entre los estudios pudieren ser explicadas por el tamaño de la muestra y por la magnitud de la viremia residual. Se desconoce el papel de la viremia residual en los pacientes en quienes esta fue detectable y se propone realizar un seguimiento clínico, virológico e inmunológico estrecho, y así determinar su significado biológico y pronóstico.

### **Impacto clínico**

La mayoría de los estudios publicados han descrito que los pacientes no respondedores inmunológicos tienen un mayor riesgo de progresión clínica con nuevos eventos definitorios de SIDA o muerte que los pacientes con adecuada respuesta.<sup>14,15</sup> En este estudio se observó que los pacientes discordantes no presentaron mayor incidencia de infecciones oportunistas posteriores a TARAA, ni tampoco presentaron mayor tasa de hospitalizaciones. (Tabla 11). Las principales infecciones oportunistas documentadas fueron secundarias a *Cytomegalovirus*, *Pneumocystis jiroveci* y *Mycobacterium tuberculosis*. La coinfección con virus Hepatitis C ha sido asociada con discordancia inmunológica<sup>79-80</sup>, sin embargo, la prevalencia de esta en la población estudiada es baja (solo 1 caso en cada grupo). La discordancia inmunológica también puede estar determinada por las funciones cualitativas del sistema inmune, las cuales no se relacionan con el nivel de CD4s

circulantes en plasma. De esta forma el significado y el beneficio clínico de la discordancia inmunológica continúa siendo un dilema, inclusive en los países subdesarrollados.

### **Predicción de discordancia inmunológica**

La monitoría de los pacientes infectados con VIH requiere de la utilización de las pruebas de CV y CD4s. No obstante, en países con recursos económicos limitados estas pruebas son una considerable fuente de gastos que limitan el mayor acceso a TARAA. En la Figura 9, de acuerdo a las observaciones obtenidas se construye una predicción del nivel de CD4s. En el caso de los pacientes con VIH y TARAA se podrían generar gráficas para pacientes que inicien con CD4s  $< 0$  o  $\geq$  de 200 cel/mL. Este es un intento en la optimización de los recursos de salud, ya que al vigilar la cuenta celular de CD4s y al obtener su incremento esperado se podría obviar la CV, realizando así, estrategias costo-efectivas en la atención de los pacientes. De esta forma, la obtención de un menor incremento de CD4s no solamente podría predecir discordancia inmunológica sino también falla virológica. Se han descritos modelos de predicción de la CV a través del nivel obtenido de CD4s, pero esta requiere adherencia completa de los pacientes durante el seguimiento.<sup>82</sup> Además es difícil establecer una predicción en aquellos pacientes con CD4s altos, ya que los cambios en la cuenta celular durante el seguimiento son mínimos y por otra parte también han sido descritos los fenómenos de respuesta paradójica. No obstante, para que esta gráfica de predicción sea validada se deberá tener un tamaño de muestra mayor, con el fin de obtener una buena representación de la población y por lo tanto mayor precisión de los estimadores (percentiles). Además, se debe asegurar que los diferentes factores de riesgo que pueden alterar este incremento de CD4s estén adecuadamente representados en la muestra. Es importante que esta gráfica de predicción sea validada ya que es útil determinar la respuesta inmune de los pacientes en forma temprana con el fin de conocer el beneficio esperado del TARAA. Esto permitiría:

- a. Detectar posibles desviaciones del incremento esperado en CD4s de manera temprana.
- b. Identificar a aquellos pacientes en áreas de alerta para la ocurrencia de infecciones oportunistas o disminución de la sobrevida (por ejemplo, por debajo de una percentila dada).
- c. Buscar e identificar posibles factores de riesgo que pudieran estar causando una respuesta diferente a la esperada.
- d. Instalar tratamientos o medidas que corrijan esta desviación.

Este estudio con 199 pacientes se describe la respuesta inmunológica con un solo esquema antirretroviral y CV < 50 Copias/mL durante el tiempo de seguimiento, y las conclusiones deben limitarse al mejor escenario de TARAA. La frecuencia de discordancia inmunológica reportada del 41%, pudiere reflejar la respuesta esperada de TARAA ya que se excluyeron algunos posibles confusores como la falta de adherencia, las interrupciones a TARAA y la emergencia de resistencia.

El tamaño de la muestra y el tiempo de seguimiento es una limitante, ya que para de que las estimaciones de los últimos años de seguimiento sean tan confiables como en los primeros años, se requiere un mayor tiempo de seguimiento con un número equivalente de sujetos que aporten datos a los diferentes tiempos del estudio.

Conocer las respuestas inmunes al TARAA es una tarea que amerita el esfuerzo creciente de la comunidad internacional, ya que es una útil herramienta para las nuevas estrategias y formas de tratamiento. Los fenómenos que explican la aparición de discordancia inmunológica siguen sin ser conocidos en su totalidad.

## **10. CONCLUSIONES**

La respuesta discordante a TARAA es un fenómeno común, con una incidencia variable que depende de los criterios utilizados para la clasificación de los pacientes. La prevalencia de respuesta discordante está relacionada con el grado de inmunosupresión al iniciar TARAA, lo cual es evidenciado por el menor nivel de CD4s y CD8s basales, el mayor nivel de CV pre-TARAA y por la aparición de infecciones oportunistas. El incremento de CD4s obtenido durante el tratamiento es proporcional con el valor basal de CD4s, CD8s y tiene además una relación inversa con la edad al inicio de TARAA y con el nivel de CV pre-TARAA. En la literatura médica internacional se ha reportado que un valor absoluto de aproximadamente  $<200$  cel/mL aumenta el riesgo de infecciones oportunistas. Por ende, las tendencias actuales de tratamiento son iniciar TARAA en fases tempranas de la enfermedad ya que el tratamiento no logra reconstituir en forma total la inmunidad, además la terapia debe ser ininterrumpida.

Se conoce del papel citolítico directo ejercido por el virus del VIH sobre las células del sistema inmunológico, el mismo efecto se traduce en la actividad replicativa residual, que podría incrementar el riesgo de falla inmunológica (descenso de CD4s) y aumentar el riesgo de mutaciones ante un esquema de tratamiento que no controle la replicación viral a un bajo nivel.

Las últimas evidencias indican que el tipo de TARAA utilizado es un factor determinante en la aparición de respuesta discordante. Es posible que esta relación sea secundaria a la capacidad para lograr la máxima supresión viral ejercida por TARAA.

No es fácil, establecer una definición del tipo de respuesta a TARAA (respuesta adecuada y respuesta discordante), ya que se desconoce el nivel circulante de CD4s pre-infección, existiendo variaciones individuales del potencial de reconstitución, por lo tanto es difícil establecer en forma real el beneficio esperado de TARAA. Diversos estudios han intentado establecerla, careciendo de reproducibilidad ya que no reflejan los fenómenos tardíos del tratamiento.

Para dar respuesta a este objetivo, se tomaron en cuenta los siguientes antecedentes: en un individuo "sano", sin infección por el VIH o algún otro tipo de inmunodeficiencia, el valor de CD4s varía entre 500 y 1500 cel/mL (cerca del 40% de todos los linfocitos). Diferentes estudios que han evaluado la respuesta a TARAA, han señalado que un número significativo de pacientes a pesar de tener una adecuada supresión viral no logran incrementar la proporción de CD4s a 500 Cel/mL después de 3 a 5 años de tratamiento. Por lo anterior, las definiciones operacionales para establecer la discordancia inmunológica incluyeron pacientes con tiempos de seguimiento igual o mayor a 3 años (rango 3 a 9 años). La respuesta discordante fue definida como un incremento no uniforme en la cuenta de CD4s.

En el presente estudio se encontró la relación de diversos factores demográficos y clínicos con la discordancia inmunológica, sin observar asociación con la CV residual. Sin embargo, se requiere aumentar el número de muestras para determinar el rol de la CV residual, al mismo tiempo se requiere evaluar otros fenómenos dirigidos por el virus como la apoptosis, el nivel de citoquinas, así como también, factores genéticos y hereditarios que se desconocen en nuestra población y que pueden favorecer una determinada respuesta inmunológica.

La prevalencia de discordancia inmunológica fue del 41%; el impacto clínico de este fenómeno no fue evidenciado. Lo cual puede ser explicado porque la inmunidad no es solo el resultado del incremento en el nivel de las células sino también en sus funciones cualitativas, por ende, la definición de discordancia también debe considerar la respuesta proliferativa de CD4s y CD8s contra los antígenos comunes y el VIH.

El aporte a corto plazo de este estudio, fue la realización de la gráfica de predicción de CD4s, que requiere ser validada con un mayor número de pacientes.

Conocer las respuestas inmunes al TARAA es una tarea que amerita el esfuerzo de la comunidad internacional, ya que es una útil herramienta en la prevención (a través de vacunas), diagnóstico oportuno y tratamiento del VIH.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Florence E, Lundgren J, Dreezen C, et al. Factors associated with a reduced CD4 lymphocyte count response to HAART despite full viral suppression in the EuroSIDA study. *HIV Medicine* 2003;4:255-62.
2. Kaufmann G, Furrer H, Ledergerber B, et al. Characteristics, Determinants and clinical relevance of CD4 T Cell Recovery to <500 Cells/ $\mu$ L in HIV Type 1-Infected individuals receiving potent antiretroviral therapy. *CID* 2005;41:361-72.
3. Nicastri E, Chiesi A, Angeletti C, et al. Clinical outcome after 4 years follow-up of HIV-seropositive subjects with incomplete virologic or immunologic response to HAART. *J Med Virol* 2005; 76: 153-60.
4. The Antiretroviral Therapy (ART) Cohort Collaboration. HIV treatment response and prognosis in Europe and North America in the first decade of highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis. *Lancet* 2006;368:451-8.
5. The Antiretroviral Therapy (ART) Cohort Collaboration. Prognostic importance of initial response in HIV-1 infected patients starting potent antiretroviral therapy: analysis of prospective studies. *Lancet* 2003;362:679-86.
6. Brigido L, Rodrigues R, Casseb J, et al. CD4+ T-cell recovery and clinical outcome in HIV 1-infected patients exposed to multiple antiretroviral regimens: partial control of viremia is associated with favorable outcome. *AIDS Patient Care STDS* 2004;18: 189-98
7. Egger M, May M, Chene G, et al. Prognosis of HIV-1 infected patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies. *Lancet* 2002;360: 119-29.
8. Bofill M, Ruiz-Hernandez R, and Ruiz L. Spectrum of CD4 T-cell recovery during prolonged treatment with highly active antiretroviral therapy. *Curr Opin HIV AIDS* 2006;1:50-5.

9. Battegay M, Nüesch R, Hirschel B, and Kaufmann G. Immunological recovery and retreatment with antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *Lancet Infect Dis* 2006;6:280-87.
10. Schechter M and Tuboi H. Discordant immunological and virological responses to antiretroviral therapy. *JAC* 2006;58:506-10.
11. Cascade Collaboration. Short-term CD4 cell response after highly active antiretroviral therapy initiated at different times from seroconversion in 1500 seroconverters. *JAIDS* 2003 32:303-10.
12. Esteve A, Jaén A, Casabona J, et al. Long-term immunological reconstitution (4 years) in Spanish HIV-infected patients on HAART in the PISCIS Cohort Study. Boston 12<sup>th</sup> Conference on retrovirus and opportunistic infections, 2005 abstract 611.
13. Sterling T, Chaisson R, and Moore R. HIV -1 RNA, CD4 T-lymphocytes, and clinical response to highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001; 15:2251-57.
14. Moore D, Hogg R, Yip B, et al. Discordant immunologic and virologic responses to highly active antiretroviral therapy are associated with increased mortality and poor adherence to therapy. *JAIDS* 2005; 40:288-93.
15. Moore D, Hogg R, and Chan K, et al. Disease progression in patients with virological suppression in response to HAART is associated with the degree of immunological response. *AIDS* 2006; 20:371-77.
16. Pakker N, Kronn E, and Roos M, et al. Immune restoration does not invariably occur following long-term HIV-1 suppression during antiretroviral therapy. *AIDS* 1999; 13:203-12.
17. Connick E., Lederman M., Kotzin B, et al. Immune reconstitution in the first year of potent antiretroviral therapy and its relationship to virologic response. *JID* 2000;181:358-63.

18. Anthony K, Yoder C, and Metcalf J, et al. Incomplete CD4 Cell Recovery in HIV-1 Infection After 12 Moths of Highly Active Antiretroviral Therapy Is Associated With Ongoing Increased CD4 T Cell Activation and Turnover. *JAIDS* 2003;33:125-33.
19. Notermans D, Pakker N, and Hamann D, et al. Immune Reconstitution after 2 Years of Successful Potent Antiretroviral Therapy in Previously Untreated Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Adults. *JID* 1999; 180:1050-6.
20. Molina-Pinelo S, Leal M, and Soriano N, et al. Prevalence and factors involved in discordant responses to highly active antiretroviral treatment in a closely followed cohort of treatment-naïve HIV-infected patients. *JCV* 2005; 33:110-15.
21. Grabar S, Le Moing V, Goujard C, et al. Clinical outcome of patients with HIV-1 infection according to immunologic and virologic response after 6 months of highly active antiretroviral therapy. *Ann Intern Med* 2000;133:401-10.
22. Lederman M. Immune restoration and CD4+ T Cell function with antiretroviral therapies. *AIDS* 2001; 15(suppl 2):S11-S15.
23. Hammer S, Saag M, Schechter M, et al. Treatment for adult HIV infection: 2006 Recommendations of the international AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2006; 296:827-43.
24. Panel on clinical practices for treatment of HIV infection. HIV/AIDS treatment information service. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV infected adults and adolescents Oct 10 de 2006. <http://www.hivatis.org>
25. Smith C, Sabin C, and Lampe F, et al. The potential for CD4 cell increases in HIV-positive individuals who control viraemia with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2003;17:963-69.
26. Blankson J. Viral reservoirs and HIV-specific immunity. *Curr Opin HIV AIDS* 2006; 1: 147-5.

27. Siliciano R. Scientific Rationale for antiretroviral therapy in 2005: Viral reservoirs and resistance evolution. *Top HIV Med* 2005;13:96-100.
28. Pariente N, Pernas M, and de la Rosa R, et al. Long-Term Suppression of Plasma Viremia With Highly Active Antiretroviral Therapy Despite Virus Evolution and Very Limited Selection of Drug-Resistant Genotypes. *J. Med. Virol.* 2004; 73:350-61.
29. Hermankova M, Ray S, Ruff C, et al. HIV-1 drug resistance profiles in children and adults with viral load of <50 copies/mL receiving combination therapy. *JAMA* 2001;286:196-207.
30. Raboud J., Montaner J, Conway B, et al. Suppression of plasma viral load below 20 copies/ml is required to achieve a long-term response therapy. *AIDS* 1998;12:1619-24.
31. Dornadula G, Zhang H, VanUitert B, et al. Residual HIV-1 RNA in blood plasma of patients taking suppressive highly active antiretroviral therapy. *JAMA* 1999;282:1627-32.
32. Havlir D, Bassett R, Levitan D et al. Prevalence and predictive value of intermittent viremia with combination HIV therapy. *JAMA* 2001;286:171-9.
33. Mulder J., Resnick R., Saget B, et al. A rapid and simple method for extracting human immunodeficiency virus Type 1 RNA from plasma: Enhanced sensitivity. *J Clin Microbiol* 1997;35:1278-80.
34. Paranjape R. Immunopathogenesis of HIV infection. *Indian J Med Res* 2005; 121: 240-55.
35. Sieg S, Harding C, and Lederman M. HIV-1 infection impairs the cycle progression of CD4+ T cell without affecting early activation responses. *JCI* 2001; 108:757-64.

36. Price D, Scullard G, and Oxenius A, et al. Discordant Outcomes following Failure of Antiretroviral Therapy Are Associated with Substantial Differences in Human Immunodeficiency Virus-Specific Cellular Immunity. *JVI* 2003;77:6041-49.
37. Garcia F, Lazzari E, and Plana M, et al. Long-Term CD4+ T Cell Count. *JAIDS* 2004;36:702-13.
38. Paiardini M, Cervasi B, and Galati D, et al. Early correction of cell cycle perturbations predicts the immunological response to therapy in HIV-infected patients. *AIDS* 2004;18:393-402.
39. Mattapallil J, Letvin N, and Roederer M. T-cell dynamics during acute SIV infection. *AIDS* 2004;18:13-23.
40. Hazenberg, Mette D, and Otto, et al. Discordant responses during antiretroviral therapy: role of immune activation and T cell redistribution rather than true CD4 T cell loss. *AIDS* 2002; 16:1287-1289.
41. Benveniste O, Flahault A, and Rollot F, et al. Mechanisms Involved in the Low-Level Regeneration of CD4 Cells in HIV-1-Infected Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy Who Have Prolonged Undetectable Plasma Viral Loads. *JID* 2005 ;191:1670-9.
42. Benito J, López M, and Lozano S, et al. CD4+ T Cell Recovery beyond the First Year of Complete Suppression of viral Replication during Highly Active Antiretroviral Therapy Is Not Influenced by CD8+ T Cell Activation. *JID* 2005;192:2142-6.
43. Goicoechea M, Smith D, and Liu L, et al. Determinants of CD4+ T Cell Recovery during Suppressive Antiretroviral Therapy: Association of Immune Activation, T Cell Maturation Markers and Cellular HIV-1 DNA. *JID* 2006;194:29-37.
44. Brinchmann J. Differential responses of T cell subsets: possible role in the immunopathogenesis of AIDS. *AIDS* 2000; 14:1689-1700.

45. Torti C, Quiros-Roldan E, and Scudeller L, et al. Characterization of viro-immunological responses in a closely followed cohort of heavily pretreated patients: evidence from the GenPheRex Study. *HIV Medicine* 2003; 4:263-70.
46. Danel C, Moh R, Minga A, et al. CD4 guided structured antiretroviral treatment interruption strategy in HIV-infected adults in West Africa (TRIVACAN ANRS 1269 trial): a randomized trial. *Lancet* 2006;367:1981-9.
47. El-Sadr W, Neaton J, for the SMART Study investigators. Episodic CD4 guided use of antiretroviral therapy is inferior to continuous therapy results of the SMART Study. Denver 13<sup>th</sup> Conference on retrovirus and opportunistic infections, 2006 abstract 106LB.
48. Drona F, Zamora J, Moreno S, et al. CD4 cell recovery during successful antiretroviral therapy in naïve HIV-infected patients: the role of intravenous drug use. *AIDS* 2004; 18:2210-12.
49. Schechter M, Brinkhof M, Egger M, and the Antiretroviral Treatment in Lower Income Countries (ART-LINC) Collaboration. Discordant Immunologic and Virologic Responses to ART among Previously Naive Adults Initiating HAART in Resource-constrained Settings. Denver 13<sup>th</sup> Conference on retrovirus and opportunistic infections, 2006 abstract 559.
50. Van Rossum A, Scherpbier H, Van Lochem E, et al. Therapeutic immune reconstitution in HIV-1-infected children is independent of their age and pretreatment immune status. *AIDS* 2001; 15: 2267-75.
51. Sarah A, Doerholt K, Sharland M, et al. Response to highly active antiretroviral therapy varies with age: the UK and Ireland Collaborative HIV Paediatric Study. *AIDS* 2004; 18: 1915-24.
52. Kalayjian R, Landay A, Pollard R, et al. Age-Related Immune Dysfunction in Health and in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Disease: Association of Age

and HIV Infection with Naive CD8+ Cell Depletion, Reduced Expression of CD28 on CD8+ Cells, and Reduced Thymic Volumes. *JID* 2003; 187: 1924-33.

53. Fernandez S., Rosenov A., James I, et al. Recovery of CD4+ T Cells in HIV patients with a stable virologic response to antiretroviral therapy is associated with polymorphisms of interleukin-6 and central major histocompatibility complex genes. *JAIDS* 2006;41:1-5.
54. Mocroft A, Phillips A, and Ledergerber B, et al. Relationship between antiretrovirals used as part of a c ART regimen and CD4 cell count increases in patients with suppressed viremia. *AIDS* 2006;20:1141-50.
55. Bermejo M, Sanchez P, and Usán L. Dynamics of HIV Replication in Lymphocytes and the Efficacy of Protease Inhibitors. *J.Med.Virol.*2004; 73:502-07.
56. Renaud M, Katlama C, Mallet A, et al. Determinants of paradoxical CD4 cell reconstitution after protease inhibitor-containing antiretroviral regimen. *AIDS* 1999; 13: 669-76.
57. Barrios A, Rendón A, Negredo E, et al. Paradoxical CD4 + T-cell decline in HIV-infected patients with complete virus suppression taking tenofovir and didanosine. *AIDS* 2005; 19: 569-575.
58. Negredo E, Moltó J, Burger D, et al. Unexpected CD4 cell count decline in patients receiving didanosine and tenofovir-based regimens despite undetectable viral load. *AIDS* 2004; 18: 459-463.
59. Kaufmann GR, Khanna N, Weber R, et al. Long-term virological response to multiple sequential regimens of highly active antiretroviral therapy for HIV infection. *Antivir Ther* 2004; 9:263-74.
60. Pillay D. HIV viral load: the myth of the undetectable? *Rev Med Virol* 2002;12:341-6.
61. Nettles R. and Kieffer T. Update on HIV-1 viral load blips. *Curr Opin HIV AIDS* 2006;1:157-61.

62. Martinez V, Marcelin A, and Morini J.P, et al. HIV-1 intermittent viraemia in patients treated by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based regimen. *AIDS* 2005; 19:1065-69.
63. Havlir D, Koelsch K, Strain M, et al for the Gilead 903 Study Team. Predictors of Residual Viremia in HIV-Infected Patients Successfully Treated with Efavirenz and Lamivudine plus either Tenofovir or Stavudine. *JID* 2005;191:1164-8
64. Roger PM, Breittmayer JP, Durant J, et al. Early CD4+ T Cell Recovery in human immunodeficiency virus-infected patients receiving effective therapy is related to a down-regulation of apoptosis and not to proliferation. *JID* 2002;185:463-70.
65. Grell S, D Ettore G, and Lauria F. CD4+ Lymphocyte Increases in HIV Patients during Potent Antiretroviral Therapy Are Dependent on Inhibition of CD8+ Cell Apoptosis. *Ann N.Y Acad Sci* 2003; 1010:560-64.
66. Zaunders J, Parseval L, and Kitada S, et al. Polyclonal Proliferation and Apoptosis of CCR5+ T Lymphocytes during Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection: Regulation by Interleukin (IL)-2, IL-15, and Bcl-2. *JID* 2003; 187:1735-47.
67. Benveniste O, Flahault A, Rollot F, et al. Mechanisms involved in the low level regeneration of CD4+ Cells in HIV 1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy who have prolonged undetectable plasma viral loads. *JID* 2005;191:1670-9.
68. Bahr G, De La Tribonniere X, and Darcissac E, et el. Clinical and immunological effects of a 6 week immunotherapy cycle with murabutide in HIV-1 patients with unsuccessful long-term antiretroviral treatment. *JAC* 2003; 51:1377-88.
69. Lange C, Valdez H, Medvik K, et al. CD4+ T-Lymphocyte Nadir and the effect of highly active antiretroviral therapy on phenotypic and functional immune restoration in HIV-1 infection. *Clinical Immunology* 2002;102:154-61.

70. David D., Keller H., Nait-Ighil L et al. Involvement of Bcl-2 and IL-2R in HIV positive patients whose CD4 cell counts fail to increase rapidly with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2002;16:1093-1101.
71. D'amicco R, Yang Y, and Mildvan D, et al. Lower CD4+ T Lymphocyte Nadirs May Indicate Limited Immune Reconstitution in HIV-1 Infected Individuals on Potent Antiretroviral Therapy: Analysis of Immunophenotypic Marker Results of AACTG 5067. *Journal of Clinical Immunology* 2005;25:106-115.
72. Lévy Y. Cytokine-based modulation of immune function in HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS* 2006;1:69-73.
73. COBAS-AMPLICOR HIV-1 Monitor Test. Version 1.5. Roche Diagnostics Manual del usuario.
74. Benito J, López M, and Soriano V. The Role of CD8+T-cell Response in HIV Infection. *AIDS* 2004; 6:79-88.
75. Phillips A and Lundgren J. The CD4 lymphocyte count and risk of clinical progression. *Curr Opin HIV AIDS* 2006;1:43-9.
76. Mezzaroma I, Carlesimo M, and Pinter E, et al. Long-term evaluation of T-cell function after HAART in advanced stage HIV-1 disease. *AIDS* 1999; 13:1187-93.
77. Sasson S, Kelleher A, and Cooper D. The Modern ART of HIV Infection Management: Towards a Tailored Approach to Maximize CD4 T Cell Reconstitution. *Clinical infectious Diseases* 2005;41:373-5.
78. Crabtree B, Galindo A, Velázquez R, et al. Government funded programs for use of HAART in Mexico City show excellent rates of retention and virologic efficacy in a specialized care setting. TorontoXVI International AIDS Conference. Abstract #TUPE0228.
79. Farmer M, Haley C, Kozei M, et al. Impact of Hepatitis C Virus on Immune Restoration in HIV-Infected Patients Who Start Highly Active Antiretroviral Therapy: A Meta-analysis. *CID* 2005; 41: 713-20.

80. Stebbing J, Waters L, Mandalia S, et al. Hepatitis C Virus Infection in HIV Type 1-infected Individuals Does Not Accelerate a Decrease in the CD4+ Cell Count but Does Increase the Likelihood of AIDS-Defining Events. *CID* 2005; 41: 906-11.
81. Ostrowski S., Katzenstein T, Thim P, et al. Low-level viremia and proviral DNA impede immune reconstitution in HIV 1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *JID* 2005;191:348-57.
82. Bisson G, Gross R, and Strom J, et al. Diagnostic accuracy of CD4 cell count increase for virologic response after initiating highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2006; 20:1613-19.