

**UNIVERSIDAD DE LEÓN**

**INSTITUTO UNIVERSITARIO DE BIOMEDICINA (IBIOMED)**

**TESIS DOCTORAL**



**“RESPUESTA INMUNE DISCORDANTE EN UNA COHORTE DE  
PACIENTES VIH EN LA PROVINCIA DE LEÓN: CARACTERÍSTICAS  
CLÍNICAS Y FUNCIONALES”**

**DIRECTORES:**

José María García Ruiz de Morales

José Manuel Guerra Laso.

**DOCTORANDO:**

Paula Dios Díez

LEÓN, 2021



Para Clara, te admiro. Me inspiras.



## ÍNDICE

1.	AGRADECIMIENTOS.....	7
2.	ABREVIATURAS.....	9
3.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
4.	ÍNDICE DE TABLAS.....	15
5.	RESUMEN.....	17
6.	ABSTRACT.....	19
7.	INTRODUCCIÓN.....	21
	Epidemiología:.....	21
	Patogenia del VIH:.....	22
	Linfopenia. Mecanismos.....	24
	Cambios en otros compartimentos del sistema inmunológico.....	26
	Respuesta inmunológica discordante (RID).....	38
8.	OBJETIVOS:.....	51
9.	PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS:.....	53
	Variables clínicas:.....	54
	Variables clínicas generales.....	54
	Variables clínicas relacionadas con la historia de la infección por el VIH.....	54
	Variables analíticas.....	55
	Sistemático de sangre:.....	55
	Parámetros inmunológicos:.....	55
	Parámetros virológicos:.....	58
	Metodología estadística.....	58
	Correlaciones.....	58
	Análisis de componentes principales.....	59
	Modelos lineales.....	59
	Box-whisker plots.....	60
	Modelos lineales de efectos mixtos (TAR).....	60
	Metodología de estilo y citas.....	60
10.	RESULTADOS.....	61
	10.1. Pacientes estudiados.....	61
	10.2. Variables clínicas.....	62
	10.3 Variables clínicas relacionadas con la historia de la infección por el VIH.....	66
	10.4 Variables analíticas.....	70
	10.4.1 Hemograma.....	70

10.4.2. Parámetros inmunológicos.....	72
10.4.3. Parámetros virológicos. ....	83
10.5. Correlación global entre las diferentes variables analizadas:.....	83
11. DISCUSIÓN.....	89
12. LIMITACIONES.....	107
13. CONCLUSIONES.....	109
14. ANEXOS .....	111
ANEXO I: consentimiento informado.....	111
15. REFERENCIAS.....	115

## 1. AGRADECIMIENTOS

A los pacientes. Por ellos y gracias a ellos.

A José Manuel Guerra y a José María García Ruiz de Morales, por contar conmigo para empezar este proyecto, ayudarme y animarme a finalizarlo. No ha sido fácil. Pero sobre todo por el tiempo y el saber que habéis compartido conmigo.

A José Luis Mauriz, por haberme orientado en el camino cuando fue necesario.

A Olga, Tina, María y Ana, técnicas del laboratorio de Inmunología del Hospital de León, por acompañarme durante mis primeros pasos. Y a Ana, inmunóloga. Este proyecto también es tuyo.

A Charo, Alberto, Julio, Miguel, Ester, Carmen y María de Medicina Interna, Microbiología y Farmacia del Hospital El Bierzo; a Marisa, José Luis y Charo de Medicina Interna del Hospital de León. Por vuestra predisposición y ayuda.

A María y Fernando, gracias a vosotros me puse en marcha.

A Felipe, por aceptar el reto.

A Patricia, eres una caja de sorpresas.

A Jose, otra vez. "Y nunca serán bastantes".

A Magdalena y Herminio. Qué suerte seguir creciendo a vuestro lado.

Y a esa "familia" que cree en mí, llena de risa los días y me espera. Gracias.



## 2. ABREVIATURAS

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADVP	Adicto a drogas por vía parenteral
ARN	Ácido ribonucleico
ATZ	Atazanavir
AZT	Zidovudina
BCR	Receptor del linfocito B
CCR5	Correceptor de citoquinas R5
CD4	Linfocitos T CD4+
CD8	Linfocitos T CD8+
CDC	Centre for Disease Control and Prevention
CMV	Citomegalovirus
CTLA4	Antígeno T citotóxico de linfocitos
CV	Carga viral
CXCL12	Quimiocina L12
CXCR4	Correceptor de citoquinas 4
DC SIGN	Dendritic-Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
DDI	Didanosina
DRV	Darunavir
DRV/r	Darunavir + ritonavir
DTG	Dolutegravir
EFV	Efavirenz
ETV	Etravirina
FTC	Emtricitabina
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos.
Gp120	Glicoproteína de superficie
HLA	Complejo mayor de histocompatibilidad
HTLV-1	Virus linfotrópico de células T humanas
IF	Inhibidores de la fusión
IL-2	Interleuquina 2

IL-7	Interleuquina 7
IL-15	Interleuquina 15
IL-18	Interleuquina 18
IL-19	Interleuquina 19
IL-22	Interleuquina 22
IL-122	Interleuquina 122
ILC	Células linfoides innatas
INF- $\gamma$	Interferón gamma
IgA	Inmunoglobulina A
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IGRA	Interferon-gamma release assay
II	Inhibidores de la integrasa
IP	Inhibidores de la proteasa
ITIN	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos nucleósidos
ITINN	Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos
ITINt	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos nucleótidos
KIR	Receptores de inmunoglobulinas asesinas
LOP/r	Lopinavir/ ritonavir
L SIGN	Liver/lymph Node-Specific ICAM-3 Grabbing Non-integrin
LT	Linfocito T
Mg	Miligramos
mL	Mililitro
$\mu$ L	Microlitro
MRV	Maraviroc
NCR	Receptor de citotoxicidad natural
NF-KB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.
NET	Trampas extracelulares de neutrófilos
NK	Células natural killer
NKp44	Células natural killer p44
OMS	Organización Mundial de la Salud
PBL	Peripheral blood lymphocytes o células efectoras
PCR	Proteína C reactiva

PMN	Polimorfonucleares
PPD	Prueba de la tuberculina
PD1	Programmed cell death 1 o proteína de muerte programada 1
QFN-TB	Quantiferon tuberculosis
RAL	Raltegravir
RIA	Respuesta inmunológica adecuada
RID	Respuesta inmunológica discordante
RTE	Emigrantes recientes del timo
SD	Desviación estándar
TAR	Tratamiento antiretroviral
Tat	Proteína reguladora transactivadora de la transcripción viral
TBC	Tuberculosis
TCR	Receptor de célula T
TDF	Tenofovir disoproxil
TGF- $\beta$	Factor de crecimiento transformante- $\beta$
Th1	Linfocitos T helper 1
Th2	Linfocitos T helper 2
Th3	Linfocitos T helper 3
Th17	Linfocitos T helper 17
Th22	Linfocitos T helper 22
TLR	Receptores Toll like
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
TREC	Círculos de excisión del receptor de células T
Treg	Linfocitos T reguladores
T-Spot	T-SPOT1 TB test
VEB	Virus Epstein Barr
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VHH-8	Virus herpes humano tipo 8
VHS	Virus herpes simple
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
Vpr	Proteína viral accesoria.



### 3. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia, incidencia y mortalidad en la epidemia de VIH. 2018. OMS ..	22
Figura 2. Clasificación linfocitos T helper. ....	27
Figura 3. Células NK en la infección por VIH-1: de la ciencia básica a las estrategias vacunales (Flórez-Álvarez <i>et al.</i> , 2018).....	31
Figura 4. Alteraciones en células B inducidas por VIH (Moir y Fauci, 2009) .....	33
Figura 5. Causas y consecuencias de la activación del sistema inmune en paciente con infección por VIH (Younas <i>et al.</i> , 2016).....	37
Figura 6. Efectos del VIH y el TAR en el fenotipo y función de los monocitos, células NK y células linfoides (Nabatanzi <i>et al.</i> , 2018).....	38
Figura 7. Esquema de los mecanismos que intervienen en la RID (Massanella <i>et al.</i> , 2013).....	43
Figura 8. Distribución de pacientes totales y finales con RID en la población de estudio. ....	61
Figura 9. Distribución de edad en ambas cohortes. Azul: cohorte 1; naranja: cohorte 2.....	62
Figura 10. Distribución de sexo biológico en ambas cohortes. ....	62
Figura 11. Eventos definitorios de sida según el Center for Disease Control and Prevention (CDC). ....	64
Figura 12. Número de esquemas globales de tratamiento por paciente y número de tratamientos modificados por fracaso. ....	69
Figura 13. Leucocitos, neutrófilos y linfocitos.....	71
Figura 14. Correlación entre los valores de inmunoglobulinas en la cohorte 1 y 2 respectivamente, y los valores absolutos de linfocitos B. ....	73
Figura 15. Citotoxicidad NK con la proporción 12,5:1 (A) y con esa misma proporción tras añadir IL-2 (B), paciente con respuesta nula de la cohorte 1.....	77
Figura 16. Citotoxicidad NK con la proporción 25:1, paciente con respuesta nula de la cohorte 1.....	78
Figura 17. Citotoxicidad NK con la proporción 50:1 (A) y con esa misma proporción tras añadir IL-2 (B), paciente con respuesta nula de la cohorte 1.....	78
Figura 18. Citotoxicidad NK con la proporción 50:1 (A) y con esa misma proporción tras añadir IL-2 (B), paciente con respuesta completa de la cohorte 2.....	78
Figura 19. Citotoxicidad NK con la proporción 50:1 (A) y con ésta proporción tras añadir IL-2 (B).....	80
Figura 20. Fagocitosis de neutrófilos a 4°C (izquierda) y 37°C (derecha).....	82

Figura 21. Fagocitosis de monocitos a 4°C (izquierda) y 37°C (derecha).....	83
Figura 22. Correlaciones significativas entre las variables analizadas según significación estadística (tamaño del círculo). Correlación positiva (azul), correlación negativa (naranja).....	85
Figura 23. Correlación entre linfocitos T según significación estadística (tamaño del círculo). Correlación positiva (azul), correlación negativa (naranja).....	86
Figura 24. Cohorte 1. Correlación de las variables en base a linfocitos T según significación estadística (tamaño del círculo). Correlación positiva (azul), correlación negativa (naranja).....	87
Figura 25. Cohorte 2. Correlaciones entre linfocitos T según significación estadística (tamaño del círculo). Correlación positiva (azul), correlación negativa (naranja). .....	88

#### 4. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cambios celulares y en citoquinas descritos en la RID .....	43
Tabla 2. Resumen de terapias inmunomoduladoras ensayadas para aumentar el número de CD4. Adaptada de Massanella <i>et al.</i> , (Massanella <i>et al.</i> , 2013) .....	48
Tabla 3. Resumen de terapias farmacológicas ensayadas para aumentar el número de CD4. Adaptada de Massanella <i>et al.</i> , (Massanella <i>et al.</i> , 2013) .....	49
Tabla 4. Estirpes celulares y marcadores. ....	56
Tabla 5. Valores de normalidad de citotoxicidad NK con o sin adición de IL-2 .....	57
Tabla 6. Valores de normalidad en granulocitos y monocitos. ....	57
Tabla 7. Interpretación de los resultados obtenidos para determinar los resultados del Interferon- <i>Gamma</i> Release Assay (IGRA).....	58
Tabla 8. Características epidemiológicas y consumo de tóxicos. Media $\pm$ DS .....	64
Tabla 9. CV, CD4 y ratio CD4/CD8 al diagnóstico y nadir de CD4. Media $\pm$ SD. ....	66
Tabla 10. grupos de fármacos recibidos por los pacientes durante la evolución.....	67
Tabla 11. fármacos recibidos por los pacientes durante la evolución .....	68
Tabla 12. Grupos de fármacos recibidos en el momento de la extracción de muestras.....	69
Tabla 13. Esquemas actuales de tratamiento .....	70
Tabla 14. Hemograma. Media $\pm$ DS .....	71
Tabla 15. Cuantificación de inmunoglobulinas y subclases de inmunoglobulinas IgG. media $\pm$ DS .....	72
Tabla 16. Subpoblaciones linfocitarias y ratio CD4/CD8. Media $\pm$ DS .....	73
Tabla 17. Linfocitos T vírgenes y memoria en % y valores absolutos. Media $\pm$ DS ..	74
Tabla 18. Proporción de TCR <i>alfa-beta</i> , TCR <i>gamma-delta</i> . Media $\pm$ DS. ....	74
Tabla 19. Activación de linfocitos CD4. Media $\pm$ DS .....	75
Tabla 20. Poblaciones T helper. Media $\pm$ SD .....	76
Tabla 21. RTE. Media $\pm$ DS.....	76
Tabla 22. Citotoxicidad NK (%) con/sin adicción de il-2. Media $\pm$ DS.....	77
Tabla 23. Citotoxicidad NK (células/ $\mu$ L) con/sin adicción de il-2. Media $\pm$ DS.....	77
Tabla 24. Efecto de IL-2 a la citotoxicidad NK.....	80
Tabla 25. Cohorte 1. Relación entre el número absoluto de células NK y la Citotoxicidad NK. Media $\pm$ DS.....	81

Tabla 26. Cohorte 1. Relación entre el número absoluto de células NK y la Citotoxicidad NK, comparación múltiple. Media $\pm$ DS .....	81
Tabla 27. Cohorte 1. Relación entre el número absoluto de células NK y la Citotoxicidad NK, tras añadir IL-2. comparación múltiple. Media $\pm$ DS .....	81
Tabla 28. Fagocitosis en granulocitos y monocitos. Media $\pm$ SD .....	82
Tabla 29. Intensidad de fluorescencia (FITC) como índice de fagocitosis en neutrófilos y monocitos. Media $\pm$ SD .....	83
Tabla 30. Estudios que establecen RID por aumento en el número de CD4 respecto al basal .....	91
Tabla 31. Estudios que establecen RID al alcanzar cifra determinada de CD4 .....	92

## 5. RESUMEN

**Introducción:** el tratamiento antirretroviral es altamente efectivo desde el punto de vista virológico, pero según la evidencia disponible, entre un 8 y un 36% de los pacientes presentan una respuesta inmune discordante (RID, respuesta virológica no acompañada de una adecuada respuesta de linfocitos T CD4). Los mecanismos implicados son objeto de múltiples investigaciones, pero todavía hay numerosos aspectos no aclarados. La inflamación crónica y la activación persistente del sistema inmune en pacientes con un diagnóstico o inicio del tratamiento tardío son clave en la patogenia.

**Objetivos:** Analizar clínica e inmunológicamente una cohorte de pacientes con RID y compararlos con otra cohorte de pacientes que, partiendo de un nadir bajo, consiguen una respuesta inmunológica adecuada (RIA).

**Pacientes y métodos:** se trata de un estudio trasversal que compara dos cohortes de pacientes seleccionadas del total de pacientes con carga viral (CV) indetectable en seguimiento en las áreas sanitarias de El Bierzo y León. La cohorte 1 formada por 16 pacientes con RID (menos de 300 CD4/ $\mu$ L tras al menos 2 años de carga viral suprimida), y la cohorte 2 compuesta por 17 pacientes con RIA (pacientes con nadir  $<250/\mu$ L, que tras dos años de tratamiento antirretroviral (TAR) consiguen cifras  $>500$  CD4/ $\mu$ L). Los pacientes aceptaron participar en el estudio y firmaron el Consentimiento Informado aprobado por el Comité de Ensayos e Investigación Clínica que rige en ambos hospitales. Se obtuvieron datos epidemiológicos y clínicos a través de la historia clínica y entrevista personal, y analíticos mediante la determinación de parámetros de laboratorio tras extracción de muestras sanguíneas.

**Resultados:** La tasa de RID en la población estudiada fue del 4,88%. No se encontraron diferencias significativas en las variables epidemiológicas ni clínicas entre ambas cohortes, exceptuando el consumo de alcohol en el pasado, mayor en la cohorte 1 ( $p<0,001$ ) y en el antecedente de enfermedad tuberculosa, mayor en la cohorte 2 ( $p=0,047$ ). También hubo diferencias en el tiempo que los pacientes recibieron TAR de manera ininterrumpida ( $p<0,001$ ) y CV suprimida, mayor en la cohorte 2 ( $p<0,001$ ). En ningún caso se inició TAR de manera precoz. Todos los pacientes tuvieron una adherencia adecuada en los dos años anteriores al estudio, sin embargo, once pacientes en la cohorte 1 y cinco de la cohorte 2, habían

presentado problemas de adherencia en el pasado. Desde el punto de vista analítico, se encontraron diferencias significativas en el número absoluto de leucocitos ( $p < 0,001$ ), neutrófilos ( $p = 0,04$ ), linfocitos ( $p < 0,001$ ) y basófilos ( $p < 0,001$ ), así como en todas las subpoblaciones linfocitarias analizadas: T totales (CD3+), T CD4 (CD3+CD4+), T CD8 (CD3+CD8+), NK (CD3-CD16/CD56+), linfocitos B totales (CD19+) y ratio CD4/CD8. Se encontraron diferencias entre ambas cohortes en valores absolutos, tanto en los CD4 memoria ( $p < 0,001$ ) y vírgenes ( $p < 0,001$ ), como los CD8 de memoria ( $p < 0,001$ ) y vírgenes ( $p = 0,03$ ), menores en la cohorte 1. En relación con la activación de linfocitos T, se detectó una mayor activación de los CD4 (CD4+/CD69+/DR+ y CD4+DR+CD25+), pero no así en los CD8. En cuanto al análisis funcional de los linfocitos T CD4+, no se observaron diferencias significativas en Th1, Th2, Th17 ni Th22, pero sí en la población de linfocitos T CD4 reguladores (Treg), mayores en la cohorte 1 ( $p = 0,007$ ). Tampoco hubo diferencias en la función del timo evaluada en base a la presencia de RTE en sangre periférica. Respecto a las células NK, se detectó menor citotoxicidad en el grupo de pacientes discordantes, incluso tras aumentar la proporción de células NK y añadir IL-2 ( $p = 0,001$ ). En cuanto a capacidad fagocítica de neutrófilos y monocitos, fue mayor en los monocitos de la cohorte 1 ( $p = 0,02$ ), pero no en neutrófilos.

**Conclusiones:** la RID en nuestro estudio fue menor que la publicada previamente, aunque los criterios son variables según los trabajos. El consumo previo de alcohol fue mayor en los pacientes con RID. No se demostraron diferencias en la incidencia de eventos relacionados o no con sida ni en mortalidad. El tiempo de carga viral suprimida fue un factor determinante para la recuperación inmune, los pacientes con RIA permanecieron más años con CV suprimida. Los valores absolutos de neutrófilos, basófilos y otras subpoblaciones (linfocitos B, CD8+, células NK) fueron menores en los pacientes con RID. Estos pacientes, además, presentaron mayor activación de linfocitos CD4+ y disminución de linfocitos CD4+ vírgenes. La citotoxicidad NK se vio significativamente disminuida en la cohorte de pacientes con RID, y mejoró tras la administración de IL-2, pero permaneciendo en rangos inferiores a los alcanzados por los pacientes con RIA. La intensidad de fagocitosis fue mayor en los monocitos de los pacientes respuesta inmune discordante.

## 6. ABSTRACT

**Objectives:** to analyse a cohort of patients with discordant immune response (DIR) from a clinical and immunological perspective and compare them with another cohort of patients who, starting from a low nadir, achieve an adequate immune response.

**Patients and methods:** this is a cross-sectional study that compares two cohorts of patients selected from the total number of patients with undetectable viral load under follow-up in the health service areas of El Bierzo and León. cohort 1 is made up of 16 patients with discordant immune response ( $<300$  CD4/ $\mu$ L after at least 2 years of suppressed viral load). cohort 2 is made up of 17 patients with adequate immune response (patients starting from a low nadir,  $>500$  CD4/ $\mu$ L after antiretroviral therapy (ART) and at least two years with suppressed viral load). The patients agreed to participate in the study and signed the Informed Consent approved by the Clinical Trials and Research Committee that governs both hospitals. Epidemiological and clinical data were obtained through clinical history and a personal interview with patients. Analytical data were obtained by determining laboratory parameters after taking blood samples from each participant.

**Results:** the DIR rate in the studied population was 4,88%. No significant differences were found in the epidemiological or clinical variables between both cohorts, except for alcohol consumption in the past, higher in cohort 1 ( $p<0,001$ ) and in the history of tuberculosis disease, higher in cohort 2 ( $p=0,047$ ). There were also differences in the time that patients continuously received ART ( $p<0,001$ ) and suppressed viral load, which was longer in cohort 2 ( $p<0,001$ ). Under no circumstances ART was started early. All patients had adequate adherence in the two years prior to the study, however, eleven patients in cohort 1 and five in cohort 2 had presented adherence problems in the past. From an analytical point of view, significant differences were found in the absolute number of leukocytes ( $p<0,001$ ), neutrophils ( $p=0,04$ ), lymphocytes ( $p<0,001$ ) and basophils ( $p<0,001$ ), as well as in all the lymphocyte subpopulations analysed: total T (CD3+), CD4 T (CD3+CD4+), CD8 T (CD3+CD8+), NK (CD3-CD16/CD56+), total B lymphocytes (CD19+) and CD4/CD8 ratio. Regarding the analysis of memory and naïve lymphocytes, differences were found between both cohorts in absolute values, both in memory CD4 ( $p<0,001$ ) and naïve CD4 ( $p<0,001$ ), as well as memory CD8 ( $p<0,001$ ) and naïve CD8 ( $p=0,03$ ). In relation to the activation of T lymphocytes, a greater activation of CD4s (CD4+/CD69+/DR+ and CD4DR+CD25+) was detected,

but not in the case of CD8s. Regarding the functional analysis of CD4+ T lymphocytes, no significant differences were observed in Th1, Th2, Th17 or Th22, but there were in the population of regulatory CD4 T lymphocytes (Treg), higher in cohort 1 ( $p=0,007$ ). There were also no differences in the function of the thymus assessed according to the presence of RTE in peripheral blood. Regarding NK cells, significantly less cytotoxicity was detected in the group of discordant patients, even after increasing the proportion of NK cells and adding IL-2 ( $p=0,001$ ). Regarding the function of neutrophils and monocytes, a greater phagocytic capacity was observed in monocyte phagocytosis in cohort 1 ( $p=0,02$ ) but not in neutrophils.

**Conclusions:** the DIR in this study was lower than the previously published in other studies, although their criteria are variable. Previous alcohol consumption was higher in DIR patients. This fact is possibly due to the size of the sample and the time of follow-up, no differences were demonstrated in the incidence of events related or not to AIDS or mortality. Time of suppressed viral load was a determining factor for immune recovery, since the patients with adequate immune response remained with suppressed viral load for more years. Lower absolute neutrophil and basophil values were observed in patients with DIR, as well as in all lymphocyte subpopulations (B lymphocytes, CD8+, NK cells) compared to patients with adequate immune response. Functional immunological factors: at a functional level, discordant patients presented greater activation of CD4+ lymphocytes and a decrease in naïve CD4+ lymphocytes, without differences in the recent thymic emigrants (RTE) values. NK cytotoxicity was significantly decreased in the cohort of patients with DIR, and improved after IL-2 administration, but remaining in lower ranges than those reached by patients with adequate immune recovery. The intensity of phagocytosis was higher in monocytes from patients with discordant immune response.

## 7. INTRODUCCIÓN

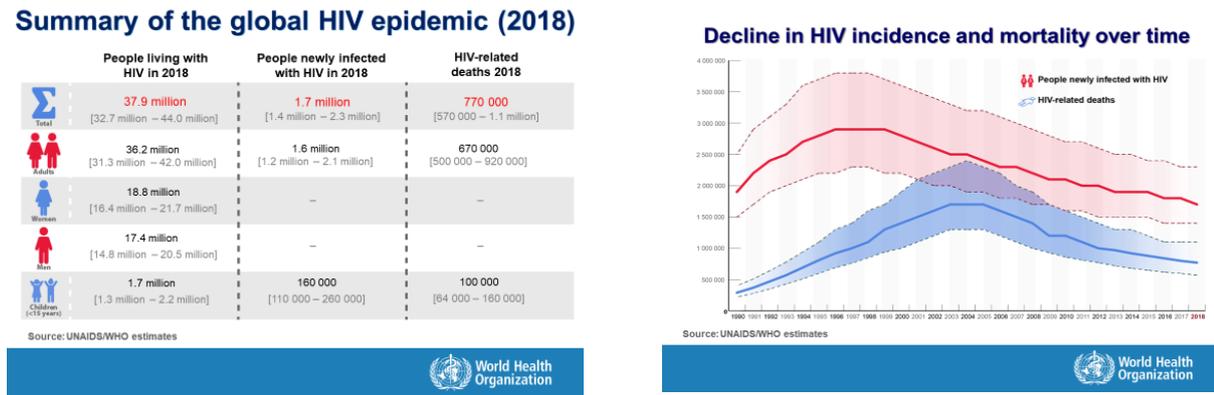
### **Epidemiología:**

Desde la comunicación de los primeros casos de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en 1981, se estima que 78 millones de personas se han visto afectadas. Actualmente el número de personas infectadas por el VIH, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), es de 37.9 millones. La mortalidad durante estos años ha sido devastadora y se calcula que es superior a los 33 millones, la mayor parte de ellos en el continente africano. Según la misma fuente, sólo un 73% de la población infectada recibe tratamiento antirretroviral, con las consecuencias que ello implica.

En España, según datos del Ministerio de Sanidad-Plan Nacional sobre el Sida (Ministerio de Sanidad, 2019) e infografía posterior, en el año 2018 se notificaron 3244 nuevos casos, lo que se suma a una prevalencia que se calcula alrededor de 0.3% en la población general. De estos pacientes, cerca de la mitad (47.6%) siguen siendo diagnósticos tardíos, la mayoría (85.3%) se identifican en varones, con una media de 36 años de edad y algo más de la mitad ocurren en hombres que tienen sexo con hombres (56%). La tendencia global de la incidencia es descendente. Sin embargo, la tasa de infección es superior a la de otros países de la Unión Europea. La mortalidad por VIH en nuestro país alcanzó un máximo en el año 1995, y desde entonces ha disminuido. Se notificaron 442 muertes en el año 2018, que suponen el 0.1% de la mortalidad global.

El tratamiento antirretroviral y las políticas sanitarias a nivel mundial han cambiado radicalmente la evolución de esta enfermedad. A pesar de esto, la infección por VIH sigue siendo en la actualidad un problema de salud pública. Estamos lejos de alcanzar los objetivos 90-90-90 establecidos para el pasado año 2020 por la OMS (90% de las infecciones diagnosticadas, un 90% de estas tratadas, de las cuales un 90% mantendrían una carga viral indetectable).

FIGURA 1. PREVALENCIA, INCIDENCIA Y MORTALIDAD EN LA EPIDEMIA DE VIH. 2018. OMS



## Patogenia del VIH:

El virus de la inmunodeficiencia humana es un virus ARN monocatenario de la familia de los retrovirus. Identificado en 1983, 2 años después de la notificación de los primeros casos de pacientes con síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida, sigue siendo objeto de ininidad de investigaciones sobre su mecanismo de actuación y persistencia en los organismos infectados. Este virus tiene un tropismo especial por los linfocitos T CD4, aunque puede infectar a casi la totalidad de las células del sistema inmunológico.

La entrada del virus en la célula precisa de su adhesión a determinadas moléculas de superficie, como pueden ser glucosaminoglicanos, gangliósidos o lectinas (DC SIGN o L SIGN) que están presentes en las células dendríticas, y que van a actuar como facilitadoras en la interacción del virus y los linfocitos T. Por otra parte, existen receptores de quimioquinas que actúan en el proceso de entrada en la célula huésped (CXCR4, minoritario salvo en fases finales de la enfermedad, y CCR5) y otro receptor específico del VIH que es el receptor CD4. Este último se expresa principalmente en la superficie de los linfocitos T colaboradores y de la estirpe mononuclear fagocítica. Para esta interacción son necesarias las proteínas gp120 y gp41 del virus (proteína de superficie y transmembrana respectivamente). A partir de ahí, se traslada la cápside íntegra hasta el núcleo a través de los poros, donde va a producirse la rotura de la misma para comenzar la retrotranscripción del material genético viral (Zila *et al.*, 2021). La mayoría de estos transcritos no se finalizan y son degradados, y una parte se integra en el ADN de las células infectadas; esto es lo que

se conoce como ADN proviral. Puede ocurrir tanto en células activadas como en estado latente, lo cual hace que pase desapercibido para el sistema inmune. El resto del material no integrado permanece como parte del reservorio y se considera un marcador de replicación viral en pacientes con CV indetectable en plasma. Que se lleve a cabo la transcripción de ese material integrado y contribuya a la replicación del VIH depende principalmente de la actuación de la proteína NF-KB factor transcripcional, que aumenta en las células activadas.

En una primera fase, el VIH interacciona con células dendríticas y linfocitos de mucosas (sistema GALT) y destruye un 60% de estos, siendo mucho mayor la depleción a este nivel que en sangre periférica. Ésta pérdida no va a recuperarse en fases posteriores aún en presencia de tratamiento antirretroviral (TAR) y recuperación cuantitativa de linfocitos. En esta localización, se identificarán diversas citoquinas, de las cuales parece que tiene un papel clave la CXCL12 que inhibe la expresión de CXCR4 y favorecerá la de CCR5, lo cual explicará una mayor prevalencia de este receptor en un primer momento. A partir del cuarto día, la infección alcanza los órganos linfoides, donde se concentran viriones que destruirán, mediante un efecto citopático directo, los linfocitos con los que entren en contacto. Este fenómeno presenta su máxima actividad entre los días 6 y 10 tras la infección. Consecuencia directa de esta destrucción es la inmunosupresión severa que alcanzan los pacientes, y que les hace susceptibles a la aparición de infecciones oportunistas y neoplasias, y al deterioro del sistema nervioso central, y que en el futuro va a repercutir en la evolución de las comorbilidades y mortalidad (Podzamczar *et al.*, 2021). En los días siguientes se reclutan linfocitos T CD4 y se produce la diseminación del virus por el organismo. Entre la tercera y cuarta semana disminuye la carga viral y se establece el punto de equilibrio entre ésta y la actividad de los linfocitos TCD8 citotóxicos.

Tras la pérdida de células T CD4 en la fase aguda de la infección, se produce una recuperación bifásica que consta de una primera etapa, que se desarrolla a lo largo de varios meses, en la que disminuye la apoptosis y se produce una redistribución de las células T memoria que estaban previamente en el tejido linfoide. Posteriormente, hay una recuperación menos intensa, que se mantiene años, en la que aumenta la producción en el timo y la vida media de los linfocitos T CD4. Estos mecanismos difieren en intensidad según el nadir de linfocitos T CD4 alcanzado por el paciente y afecta también a otras células del sistema inmune. Después de varios años en ausencia de tratamiento se alcanza la fase final o SIDA, en la que la depleción

de linfocitos T CD4 es de nuevo más intensa, el efecto citopático vuelve a cobrar importancia y aumentan las variantes CXCR4.

### Linfopenia. Mecanismos.

La linfopenia severa que se observa en estos pacientes no sólo está causada por el efecto citopático directo, que es consecuencia de la replicación viral, sino también por diversos mecanismos indirectos relacionados fundamentalmente con la activación inmune y la inflamación crónica. Estos dos procesos se consideran, a día de hoy, las principales causas de pérdida de células T en pacientes con carga viral suprimida. Lo que no parece estar claro es el peso de cada uno de los fenómenos que conforman este escenario. Las distintas vías que conducen a esta situación se desarrollan a continuación siguiendo el esquema de una revisión exhaustiva publicada por el grupo de Younas en 2016 (Younas *et al.*, 2016) con algunas notas adicionales aportadas por otros autores:

- Los linfocitos T CD8 citotóxicos destruyen linfocitos T CD4 infectados que presentan péptidos virales.
- El VIH activa directamente el sistema inmune innato (monocitos y macrófagos) e interacciona con los receptores Toll like o de reconocimiento de patrones (TLR), los cuales a su vez activan la producción de interferón alfa e intervienen en la liberación de citoquinas proinflamatorias.
- Se produce una redistribución de los linfocitos en los órganos linfoides y un bloqueo en la regeneración de estos. Hay una salida a sangre periférica de linfocitos T memoria (alterando la maduración de estos clones y favoreciendo un envejecimiento precoz). Unas tres semanas después de la infección aguda, se produce un efecto rebote y aumentan los linfocitos T vírgenes. Una vez que la replicación del virus se ha controlado con el tratamiento, se va a recuperar parcialmente la tasa de formación de linfocitos T memoria.
- La coinfección por diversos virus se ha relacionado con un estado de activación permanente del sistema inmunológico (a través de la activación de células T y producción de interleucinas). Este fenómeno ha sido descrito en el virus de la hepatitis B (VHB), virus de herpes simple (VHS), virus de Epstein Barr (VEB), virus

herpes tipo 8 (VHH-8), virus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1) y citomegalovirus (CMV). También ocurre con la infección por el virus de la hepatitis C (VHC), situación en la que se ha demostrado una menor inflamación tras la respuesta sostenida al tratamiento antiviral específico (Badano *et al.*, 2019; Garcia-Broncano *et al.*, 2020; Miller *et al.*, 2005; Potter *et al.*, 2010).

- La translocación bacteriana, que puede estimarse detectando la presencia de lipopolisacárido bacteriano en sangre (Somsouk *et al.*, 2015), tiene un papel fundamental en la inflamación crónica. Esto se debe al efecto directo en la destrucción de tejido linfático intestinal, en concreto los linfocitos T helper 17 (Th17), clave en el control de la infección a este nivel, y por una alteración en la permeabilidad del epitelio, favoreciendo el paso de patógenos al resto del organismo y perpetuando la activación. Esto último podría explicarse por el aumento del espacio intercelular en la mucosa intestinal (Tincati *et al.*, 2016). Se han realizado aislamientos de multitud de microorganismos en sangre periférica y se han objetivado cambios en la microbiota intestinal que realimenta esta situación de inflamación (Xu *et al.*, 2018).
- La activación crónica del sistema inmune favorece la senescencia de los linfocitos T.
- La apoptosis, no sólo estimulada por agentes externos, sino sobre todo desencadenada en el interior de la célula a través de una alteración de la permeabilidad mitocondrial, afecta principalmente a linfocitos no infectados mediante el estímulo de proteínas como gp120 u otras partículas virales, como la proteína viral accesoria (Vpr) y la proteína reguladora transactivadora de la transcripción viral (Tat).
- La linfopenia *per se* contribuye a la activación inmune como se ha visto en estudios de pacientes con linfopenia de linfocitos T CD4 aislada idiopática (Zonios *et al.*, 2008). A su vez la linfopenia estimularía la producción de interleuquina 7 (IL-7), que contribuye a la expansión de los linfocitos T CD8 ya que tiene un papel proinflamatorio (Irin Sereti *et al.*, 2009).
- También se han descrito polimorfismos genéticos implicados en la linfopenia, y variaciones genéticas en INF $\gamma$  e interleuquina 19 (IL-19) (García *et al.*, 2019).

## Cambios en otros compartimentos del sistema inmunológico.

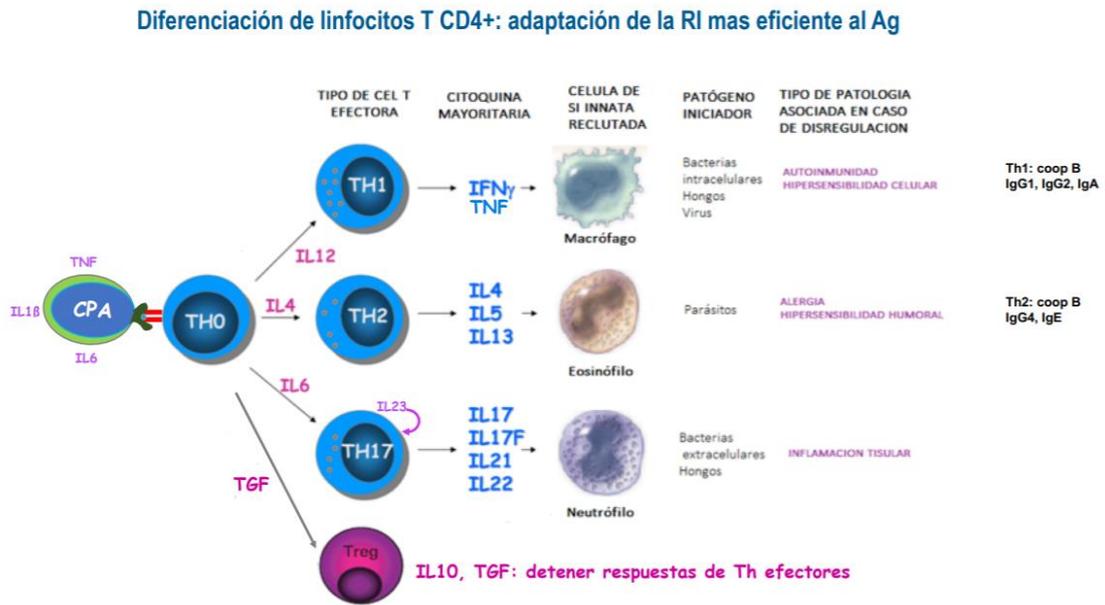
A nivel celular existen cambios en todos los compartimentos del sistema inmunológico. En general, se produce una depleción de células del sistema inmune adaptativo de manera directa, e indirectamente de las células de sistema inmune innato. También de forma global se observa un cambio de fenotipo hacia subtipos disfuncionantes y hay una activación transversal de todos los compartimentos. Pacientes con una infección más avanzada tienen más riesgo de presentar algunos procesos aberrantes como es el síndrome de reconstitución inmunológica.

## Linfocitos T CD4.

Los linfocitos T CD4 reconocen antígenos presentados por el complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (HLA II). Tienen una función principalmente colaboradora, y se diferencian en diferentes extirpes funcionales dependiendo del contexto tisular en el que se produce la presentación antigénica y del tipo de citoquinas allí presentes (Figura 2):

- En el caso de los linfocitos T helper tipo 1 (Th1), producen de forma preferente interleuquina 2 (IL-2) e INF- $\gamma$  y potencian la actividad de los linfocitos T citotóxicos, las células natural killer (NK), linfocitos B y macrófagos e intervienen en la defensa de infecciones intracelulares (*Salmonella spp* y *Mycobacteria spp.*).
- Los linfocitos T helper tipo 2 (Th2), producen de forma preferente interleuquina 4 y 5, favoreciendo la producción de inmunoglobulinas E y G en la defensa de patógenos extracelulares (*Cryptococcus spp.* *Leishmania spp.* y helmintos).
- Los linfocitos Th17 tienen un papel clave a nivel de las mucosas, en las infecciones por hongos como *Candida* y bacterias como *Staphylococcus spp.* y producen IL-17, IL-22 y TNF- $\alpha$ .
- Los linfocitos T reguladores (Treg) producen interleuquina 10 y Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF $\beta$ ). Su función es regular el estado de activación de las otras poblaciones de linfocitos T CD4.

FIGURA 2. CLASIFICACIÓN LINFOCITOS T HELPER.



Durante la infección VIH los linfocitos T CD4 presentan una mayor tasa de división y una expansión de las células T memoria, con una reducción proporcional de linfocitos T vírgenes; además expresan en mayor medida marcadores de activación. También se ha observado un aumento de receptores con función inhibitoria en la superficie celular, como la proteína programada 1 de muerte celular (PD-1), que disminuiría la capacidad de respuesta frente a determinados estímulos. Este es un fenotipo característico de los linfocitos T “exhaustos” por la activación crónica. Por otra parte, se han descrito en estas células marcadores de envejecimiento como es el acortamiento de los telómeros, con una tasa de apoptosis mayor que en ausencia de infección por VIH.

### Linfocitos T CD8.

Los linfocitos T CD8 responden a los antígenos presentados por el HLA I. Son predominantemente linfocitos citotóxicos, que inducen la apoptosis en la célula infectada, aunque también hay linfocitos T CD8 con actividad colaboradora. En individuos sanos, en sangre periférica, el número de estas células es ligeramente menor que la de linfocitos T CD4, con una ratio CD4/CD8 que en condiciones normales

se encuentra entre 0.8 y 2. Esta proporción se invierte en infecciones virales. Producen citoquinas, INF- $\gamma$  o TNF- $\alpha$ , y lisan directamente células infectadas por virus mediante perforinas y granzimas. Pueden bloquear la replicación del virus y eliminar virus de células infectadas sin destruirlas. En pacientes con infección por VIH hay una expansión clonal de estas células, contribuyendo a este aumento en cierta medida una mayor supervivencia debido a una menor dependencia del timo (Sonia Molina-Pinelo *et al.*, 2009).

### Células NK.

Ejercen de nexo entre la inmunidad adaptativa, reconociendo patrones específicos, y la inmunidad innata, ejerciendo una respuesta citotóxica inmediata no restringida por HLA I. Además, tienen un papel clave en la destrucción de células infectadas por el VIH y también limitan su propagación a través de la producción de citoquinas (Flórez-Álvarez *et al.*, 2018; Nabatanzi *et al.*, 2018).

Las células NK pertenecen al conjunto de células linfoides innatas (ILC), la mayor parte de las cuales, se engloban dentro el subconjunto ILC1. Una pequeña proporción, el subconjunto ILC3, producen una mayor cantidad de interleuquina 22 (IL-22), que es una citoquina importante en la protección de mucosas y en la translocación bacteriana.

Las células NK globalmente se identifican como CD3- CD16+ CD56+ y presentan varios fenotipos:

- Las células NK CD56<sup>brigh</sup>CD16<sup>-</sup>, con función inmunomoduladora, presentan alta afinidad por el receptor de IL-2. Producen grandes cantidades de INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF). Son más comunes en el tejido linfóide. Se ha objetivado una disminución en número en pacientes en progresión y con carga viral elevada.
- Las células NK CD56<sup>dim</sup> CD16+ (de las cuales una pequeña proporción son CD16 negativas) son mayoritarias, en torno al 90%. Tienen fundamentalmente actividad citotóxica. Se consideran células NK maduras. Predominan en tejidos periféricos y expresan basalmente el receptor de IL2 de afinidad intermedia.

- Las células NK CD56-CD16+, tienen una capacidad citotóxica disminuida. En la infección crónica por VIH aumentan a costa de una disminución de las células CD56+. Estas células manifiestan alteraciones funcionales con menor producción de citoquinas.
- Hace unos años se describió un subtipo de células NK con capacidad memoria (Dokun *et al.*, 2001; Sun y Lanier, 2009). Parece que son células diferenciadas a partir del fenotipo CD16dim. Son más frecuentes en pacientes resistentes a la infección VIH y su número está disminuido en aquellos pacientes VIH con mayor carga viral (Gondois-Rey *et al.*, 2017).

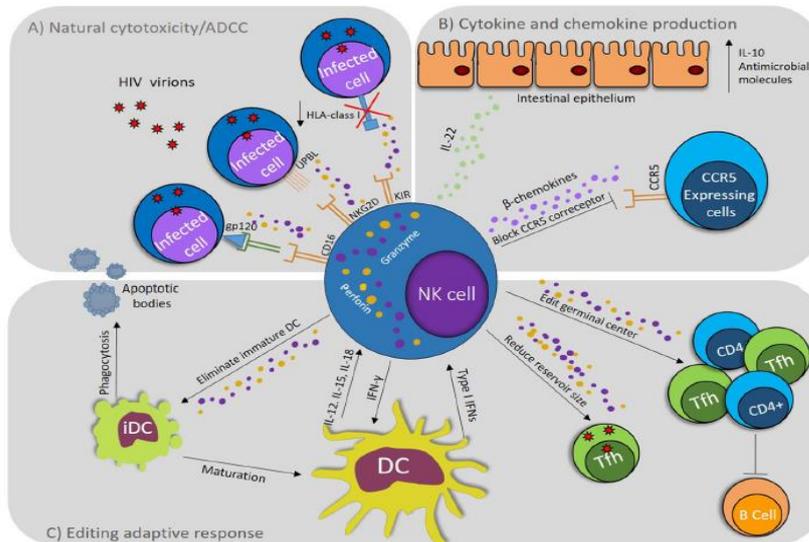
Una mayor actividad de las células NK, a través de un aumento en la producción de citoquinas (Factor de necrosis tumoral alfa -TNF- $\alpha$ -, INF- $\gamma$ , GM-CSF), y de quimioquinas (que a su vez son ligandos naturales del correceptor CCR5) se ha relacionado en diferentes estudios con una mayor resistencia para adquirir la infección. Esto se objetiva en diversas poblaciones (niños nacidos de madres VIH, usuarios de drogas por vía parenteral, parejas serodiscordantes...) (Flórez-Álvarez *et al.*, 2018; Quillay *et al.*, 2016; Walker *et al.*, 2015). En pacientes infectados, una mayor actividad NK se ha relacionado con mejor control de la viremia y de la infección. En pacientes sin TAR se ha observado como existe un fenotipo de células NK disfuncionantes, y en menor medida en pacientes con infección crónica (Brunetta *et al.*, 2009; Nabatanzi *et al.*, 2018). Las células NK poseen receptores para IL-2, principalmente en las células más inmaduras. En algunos ensayos se ha observado cómo este receptor, al ser estimulado con IL-2, presenta una mayor respuesta (Giuliani *et al.*, 2017). Se ha observado en pacientes VIH, que las células NK tienen una expresión disminuida de receptores de citotoxicidad y una actividad citolítica menor. Esto está relacionado a su vez, con una mayor activación basal (Abel *et al.*, 2018; Fogli *et al.*, 2004).

En la fase inicial tras la infección por el VIH, las NK inhiben la diferenciación de linfocitos T y B de memoria. En la mitad de los casos presentan un receptor específico para linfocitos T CD4 y receptores como CXCR4 y CCR5 que las hacen susceptibles a la infección (este tipo corresponde con las CD16+). Expresan también un receptor de citotoxicidad de células NK (NKp44), cuya expresión es inducida por la proteína gp41 del virus, que favorece la interacción con el ligando de los linfocitos CD4 NKp44L, y los hace más susceptibles a la lisis (Vieillard *et al.*, 2005).

A través de la secreción de diferentes citoquinas (INF- $\gamma$ ) las células NK favorecen la maduración de células dendríticas y estas a su vez secretan interleuquina 18 (IL-18) e INF-I que actúan sobre las células NK (Figura 3). Por otra parte, los cuerpos líticos consecuencia de la apoptosis desencadenada por las NK van a ser absorbidos por las células dendríticas y también contribuyen a su maduración. Además, mediante la regulación en la presentación de antígenos se favorece la diferenciación de los linfocitos Th1 que contribuyen a la respuesta frente al VIH (Flórez-Álvarez *et al.*, 2018).

Las células NK manifiestan una respuesta proliferativa durante la infección aguda, pero en la fase crónica se ha observado que modifican su fenotipo hacia CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> y CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>, con una disminución relativa del fenotipo CD56<sup>brigh</sup> (Nabatanzi *et al.*, 2018). Una vez infectadas, también disminuye su número y la recuperación posterior es igualmente deficiente. Por tanto, la producción de INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-2 se reduce, y como consecuencia también lo hace la activación de otras células mediadas por estas moléculas, como las células dendríticas (Taborda *et al.*, 2014). El resto de los fenómenos descritos en otras células, afecta a las células NK de manera similar, pudiendo observarse en estas la expresión de marcadores de senescencia como el ya mencionado CD57 y/o la pérdida de expresión de CD56, así como el marcador de activación HLA-DR. En contraposición con este escenario, se ha visto que existe una preservación de la función de estas células en los pacientes controladores élite (Marras *et al.*, 2013).

FIGURA 3. CÉLULAS NK EN LA INFECCIÓN POR VIH-1: DE LA CIENCIA BÁSICA A LAS ESTRATEGIAS VACUNALES (FLÓREZ-ÁLVAREZ *ET AL.*, 2018)



## Linfocitos B

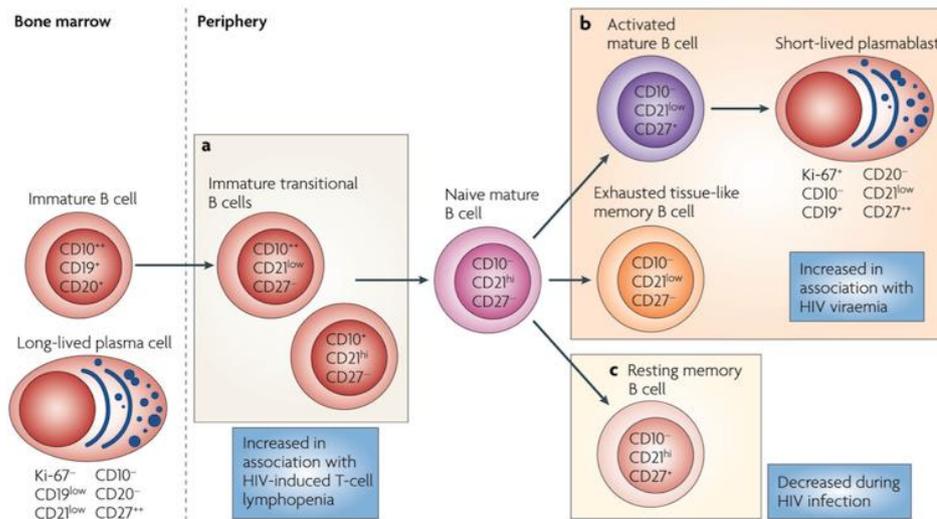
Los linfocitos B se ven afectados por una serie de cambios que pueden ser equiparables a otras células del sistema inmunológico. Se reconocen en linfocitos B tipo 1, que producen rápidamente inmunoglobulina M, y los tipo 2 que necesitan ser activados por los linfocitos colaboradores (Moir y Fauci, 2008, 2009). Figura 4.

- De manera directa, el VIH contribuye a través del receptor CD21 a la activación de las células B, pero también actuando como facilitador en la interacción con las células dendríticas.
- De manera indirecta, se produce una hiperactivación de estas células que se va a traducir en un aumento de la tasa de renovación celular, de la expresión de marcadores de activación, en aumento de anticuerpos y autoanticuerpos, en una activación policlonal y de células plasmáticas, con aumento de plasmablastos de vida media corta responsables de la hipergammaglobulinemia característica. Citoquinas y lipopolisacárido bacteriano contribuyen también de manera indirecta a la activación celular. La respuesta de la inmunoglobulina A (IgA) frente al VIH en las mucosas es menor en comparación con otras inmunoglobulinas, y podría ser por destrucción

precoz de órganos linfoides a nivel intestinal. También se ha descrito una respuesta defectuosa de las células B memoria.

- Se induce la diferenciación terminal de estos linfocitos, con una mayor proporción de células B inmaduras. En los individuos infectados por VIH, la proporción de células B presentes es diferente a los individuos sanos: hay un mayor número de células B de transición inmaduras, células B agotadas, células B maduras activas y plasmablastos, con un menor número de linfocitos B de memoria. Los receptores de citoquinas CXCR4 y CXCR5, implicados en la maduración al contribuir en el desplazamiento de los linfocitos B hacia los centros germinales, están disminuidos en estas células.
- Como en otras células del sistema inmunológico, su funcionalidad está alterada: existe una incapacidad para elaborar respuestas de anticuerpos específicos frente a antígenos. También se ha descrito una disminución en los receptores de adhesión.
- La depleción de linfocitos B tiene también relevancia porque implica un peor funcionamiento de este compartimento B. La IL-7 se correlaciona con un aumento de las células B inmaduras de transición y a su vez con una disminución de los linfocitos T CD4.
- En conjunto, esta situación lleva a los linfocitos B a un envejecimiento precoz. Según avanza la infección, se observa una pérdida de CD21 en sangre periférica, y las células B CD21<sup>low</sup> se constituyen como células B exhaustas. También expresan otros receptores en esta dirección como el PD1 o el antígeno T citotóxico de linfocitos (CTLA4). En este contexto se ha observado una mayor incidencia de neoplasias.
- El TAR restaura la mayoría de las alteraciones a este nivel: hipergammaglobulinemia, respuestas específicas y no específicas a antígenos, disminución de los marcadores de activación y en el recambio celular, entendido éste como proliferación celular y como apoptosis. Sin embargo, no se revierte por completo la situación y no se consigue una mejoría en el número ni en la función de las células B de memoria. En esta circunstancia podrían estar implicados los linfocitos T CD4, fundamentales en la colaboración frente a la respuesta antigénica. Un ejemplo se ha descrito en la menor capacidad de respuesta frente a la vacuna del neumococo en estos individuos (K L, Slayter; J, Singer; TC, Lee; H, 2013).

FIGURA 4. ALTERACIONES EN CÉLULAS B INDUCIDAS POR VIH (MOIR Y FAUCI, 2009)



### Las células dendríticas

Las células dendríticas se dividen, por una parte, en células mieloides, que capturan antígenos para presentarlos en el tejido linfático. Estas células también presentan un estado de activación y una mayor producción de productos inflamatorios. Otro tipo de células dendríticas son las plasmacitoides que se encargan fundamentalmente de la producción de interferón (IFN) tipo I. Este subtipo también manifiesta datos de activación, pero disminuye su número durante la infección (influyendo posiblemente en estos fenómenos de apoptosis y acumulación en tejido linfático). Parece que en conjunto tienen una menor capacidad para interactuar con las células T y las células NK (Donaghy *et al.*, 2003). En un estudio reciente, las células dendríticas parecen que podrían tener un papel importante en el tamaño del reservorio, ya que la estimulación del receptor de la célula T (TCR) mediado por estas células podría ayudar a la purga de células infectadas en estado de latencia (Stiksrud *et al.*, 2019; van Montfort *et al.*, 2019).

### Células linfoides innatas

Existen otras células conocidas como células linfoides innatas, que no responden de manera específica a antígenos, no presentan marcadores de linfocitos

T ni B, ni reordenamiento de receptores TCR ni receptor del linfocito B (BCR) (son células CD45+CD3-CD19-), pero son capaces de producir citoquinas con un patrón que remeda funcionalmente a los linfocitos Th1 (ILC1), Th2 (ILC2) y Th17(ILC3). Tienen un papel fundamentalmente en la homeostasis y en la generación de respuestas inmunes a nivel de diferentes mucosas como la intestinal.

Disminuyen globalmente en sangre periférica y en la mucosa gastrointestinal tras la infección aguda, sobre todo el subconjunto ILC 3. Sin embargo, en el tejido amigdalario no se ha constatado este descenso, por lo que podría comportarse como un compartimento independiente. Se ha comprobado que esta depleción va a persistir en el tiempo y contribuye a mantener la permeabilidad de la barrera intestinal. En algunos pacientes, cuando el inicio del TAR es muy precoz, se ha descrito una recuperación cuantitativa de estas células (Ussher *et al.*, 2015).

#### Monocitos.

Los monocitos, clásicamente encuadrados dentro del compartimento celular innato, no son una excepción en sufrir las alteraciones provocadas por el VIH que afectan al sistema inmune. Se activan de forma indirecta, disminuyen en número y también presentan una menor capacidad para la formación de la estructura del complejo mayor de histocompatibilidad II (MHC-II) – antígeno. Se reconocen dos tipos funcionalmente diferentes:

- Los monocitos clásicos, con actividad fagocítica (CD14++CD16-) que son mayoritarios en individuos no infectados y también al inicio de la infección.
- Monocitos inflamatorios, (CD14++CD16+) que aumentan la producción de citoquinas (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6...) y presentan una actividad aberrante. Esta subpoblación tiene una menor capacidad de absorber y presentar antígenos. Una cuestión que cabe destacar en relación con este grupo celular, es que presentan una polimerización de actina aumentada, que podría traducirse en problemas en la quimiotaxis y la fagocitosis. Se consideran monocitos funcionalmente anérgicos, puesto que tras estar sometidos a estímulos continuamente pierden su capacidad de respuesta frente a antígenos (Nabatanzi *et al.*, 2018; Stiksrud *et al.*, 2019).

## Neutrófilos.

Los neutrófilos también forman parte del compartimento de células del sistema inmune innato y están presentes en la primera línea de defensa frente a los patógenos. Tienen una vida media muy corta, pero ésta puede aumentar considerablemente en situaciones de infección y en respuesta a los factores estimulantes de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) secretados por macrófagos que son atraídos al sitio de infección.

La función principal de estas células es la eliminación de patógenos a través de mecanismos de fagocitosis, trampas extracelulares de neutrófilos (NET), citotoxicidad mediada por anticuerpos, degranulación y liberación de péptidos con actividad microbiciada. Además, intervienen en la activación o supresión del sistema inmune según el contexto. Producen IL-12, que es clave en la interacción entre el sistema inmune innato y el sistema inmune específico, y estimulan la secreción de citoquinas e INF- $\gamma$  por las NK, y también la diferenciación de la respuesta Th1. A su vez, las citoquinas secretadas por las NK activarán las células del sistema inmune innato (fagocitos, células dendríticas) (Sepúlveda CCC *et al.*, 2000). Como curiosidad, se han descrito alteraciones en la actividad de las células NK en pacientes con neutropenia autoinmune (Yaseen *et al.*, 2018).

En pacientes con infección por VIH también se han objetivado alteraciones en la función y el número de los neutrófilos. Esto sigue siendo así incluso en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral. La importancia de este dato, radica en que la gravedad de la neutropenia se relaciona con una mayor progresión de la enfermedad. Este proceso está mediado por un efecto citopático directo (una proporción de los neutrófilos pueden expresar receptor CD4 y CXCR4 (Yaseen *et al.*, 2018), pero también una mayor apoptosis. Otro de los procesos implicados es la interferencia del VIH en la hematopoyesis. Por una parte, el virus puede infectar a ciertas células madre con receptores CD4, CCR5 y CXCR4, pero por otra parte inhibe el crecimiento de células madre a través de la glicoproteína 120 de la envoltura por inducción del TGF- $\beta$  o la inducción de apoptosis. El microambiente medular puede verse afectado por determinadas citoquinas y factores de crecimiento. Algunas infecciones oportunistas o algunas de las más prevalentes en el paciente VIH contribuyen a lesionar la médula

ósea, y también ocurre con algunos de los fármacos empleados en estos pacientes como tratamiento o profilaxis.

Hay trabajos que describen los factores de crecimiento de colonias y de la administración de interleuquina 15 (IL-15) como facilitadores en el aumento del número y mejora de la función de neutrófilos en pacientes con infección por VIH. En concreto la IL-15 parece que es relevante en la respuesta a hongos, la quimiotaxis y la apoptosis. Sin embargo, este trabajo no ha demostrado relevancia clínica (Mastroianni *et al.*, 2000).

En relación con la alteración funcional, podemos destacar una menor capacidad de fagocitosis, alteraciones en la polimerización de la actina y una producción disminuida de especies reactivas de oxígeno. Todo esto contribuye a una destrucción menos eficaz de bacterias. La producción de citoquinas inflamatorias está aumentada, principalmente frente a *Candida* y lipopolisacárido bacteriano (Younas *et al.*, 2016). Durante la infección por VIH, los neutrófilos contribuyen a la perpetuación de la activación inmunológica a través de la producción de proteínas llamadas defensinas.

La activación de las células PMN, y podría estar mediada por el receptor TLR, ya que su activación induce la producción de citoquinas inflamatorias. Éstas, además del papel mediador fundamental que desarrollan, producen daño local en los tejidos afectados, perpetuando dicha activación. Otro aspecto relevante tiene que ver con el papel que juegan en la protección de la mucosa intestinal frente a agentes externos. Esto es clave durante la regeneración de la barrera epitelial, puesto que los PMN son una de las primeras células en llegar al foco de la infección, evitando la translocación bacteriana y diseminación en el organismo. Por otra parte, interactúan con las células Th17 participando en el mantenimiento de la homeostasis intestinal a través de la producción de IL-17 e IL-22. Sin embargo, cuando se produce un daño continuo de esta barrera, la activación de neutrófilos puede dañar el tejido a través de la secreción de citoquinas inflamatorias.

#### Células endoteliales.

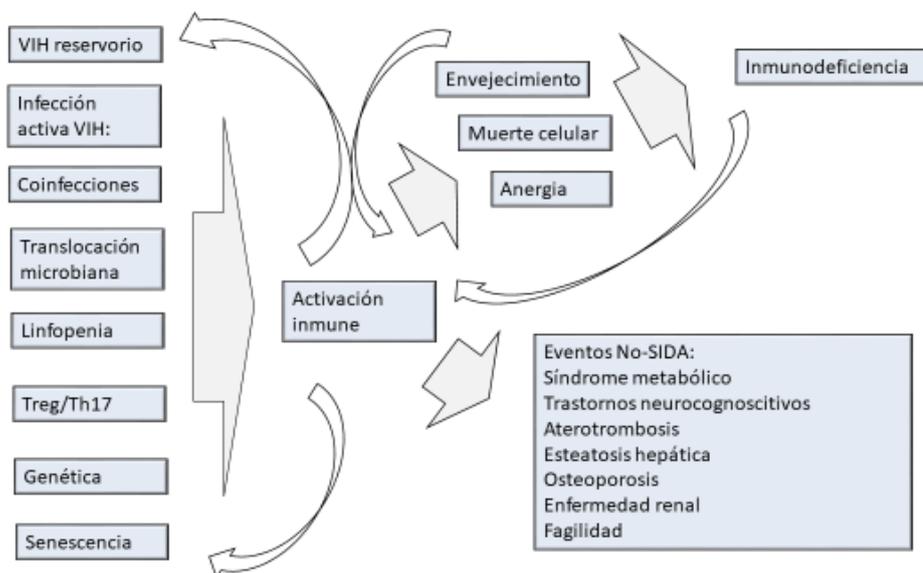
Las células endoteliales son activadas por citoquinas (que a su vez también producen), por el tratamiento antirretroviral y por el propio VIH. La alteración del

endotelio favorece su permeabilidad y un estado de hipercoagulabilidad (Graham *et al.*, 2013).

### Coagulación.

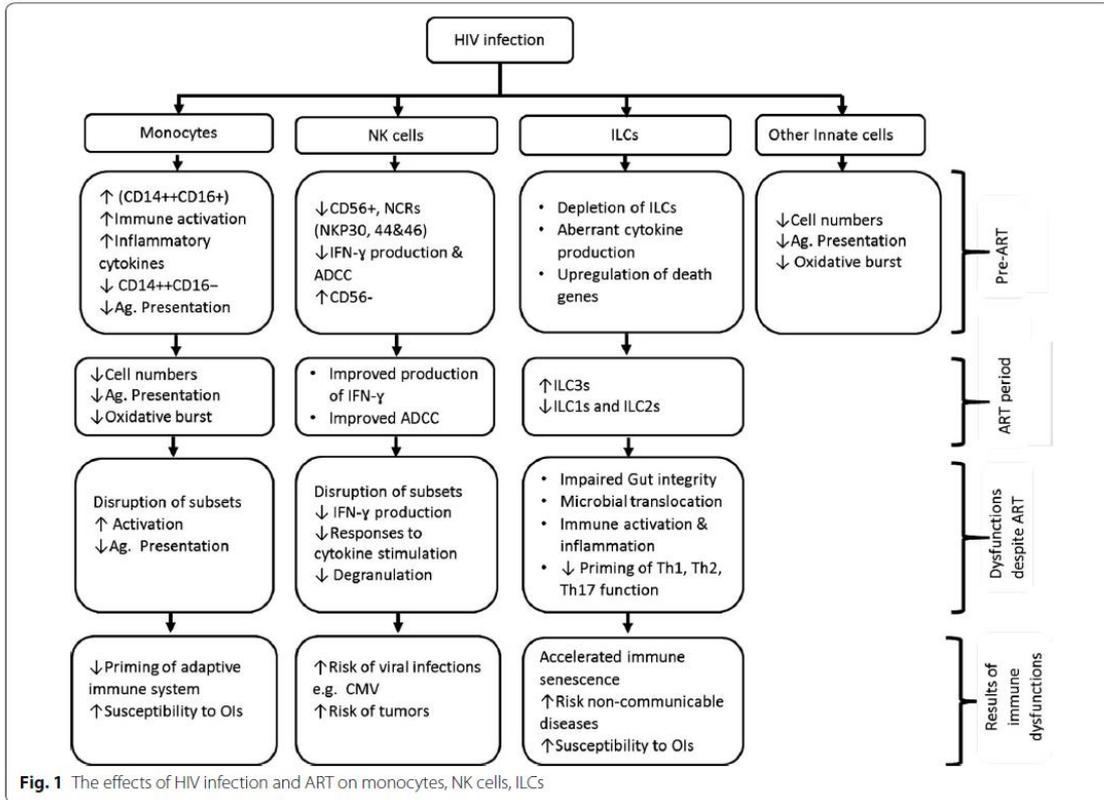
Por acción directa del VIH y también consecuencia de la activación crónica del sistema inmune (las células que lo conforman expresan marcadores procoagulantes), se produce una alteración en la coagulación, aumentando los factores que la favorecen (factor VIII, factor de von Willebrand) y disminuyendo factores anticoagulantes (antitrombina y proteínas C y S).

FIGURA 5. CAUSAS Y CONSECUENCIAS DE LA ACTIVACIÓN DEL SISTEMA INMUNE EN PACIENTE CON INFECCIÓN POR VIH (YOUNAS *ET AL.*, 2016)



Modificado de HIV Med 2016 Blackwell Publishing

FIGURA 6. EFECTOS DEL VIH Y EL TAR EN EL FENOTIPO Y FUNCIÓN DE LOS MONOCITOS, CÉLULAS NK Y CÉLULAS LINFÓIDES (NABATANZI *ET AL.*, 2018)



### Respuesta inmunológica discordante (RID)

El TAR puede actuar a varios niveles controlando la replicación viral y disminuyendo el número de copias de ácido ribonucleico (ARN) a niveles indetectables por las técnicas habituales (Abbas y Herbein, 2012). Es altamente efectivo desde el punto de vista virológico, y controla la replicación en más del 90% de los pacientes. Estas cifras son incluso mayores en los últimos años, por una mayor efectividad de los fármacos y una menor toxicidad, que contribuye a una mejor adherencia terapéutica.

A pesar de que el TAR consigue que no se detecte ARN viral circulante en plasma, se puede seguir observando una replicación a bajo nivel en diferentes tejidos que constituye parte del reservorio del VIH, y que no va a ser posible erradicar con este tratamiento. El reservorio estaría compuesto por células T de memoria infectadas en estado de latencia en órganos linfáticos, por macrófagos que presentan una mayor resistencia a la apoptosis y también por progenitores hematopoyéticos. Se ha descrito

también a nivel de la mucosa pulmonar en pacientes con carga viral suprimida (Costiniuk *et al.*, 2018). En este último caso se ha observado un mayor número de marcadores de activación (CD38 y HLA-DR) y de senescencia (CD57) en estos linfocitos T CD4, dato que concuerda con otros trabajos que han descrito una relación directa entre el número de CD4 y CD8 activadas y el número de linfocitos en reposo conteniendo ácido desoxirribonucleico (ADN) proviral (Cockerham *et al.*, 2014; E. Lee *et al.*, 2019). Menos probable parece que el reservorio esté compuesto por células dendríticas y monocitos, por su corta vida media, aunque como se ha reseñado anteriormente, el papel de estas células también parece ser importante en la permanencia del mismo. Existen datos para pensar que este reservorio puede autorregenerarse y mantenerse a lo largo del tiempo, por lo que supone el problema fundamental a la hora de conseguir una erradicación completa del virus (Barouch y Deeks, 2014; Matthew *et al.*, 2011).

Habitualmente, tras el inicio del tratamiento antirretroviral, la replicación viral se suprime, y la carga viral plasmática desciende hasta hacerse indetectable. Esto se suele acompañar de un aumento en el número de linfocitos T CD4, y una disminución drástica en la incidencia de infecciones oportunistas, a expensas fundamentalmente de la salida a sangre periférica de los linfocitos T secuestrados en órganos linfoides antes del inicio del tratamiento (Binet y Chêne, 2001; Hazenberg *et al.*, 2000). Sin embargo, estos fenómenos no siempre son sinónimo de recuperación inmunológica. La bibliografía disponible señala que un porcentaje de pacientes, que varía entre el 2.6 y el 36%, no experimentan un aumento deseable en el número de linfocitos T CD4 (Dronda *et al.*, 2002; F. N. Engsig *et al.*, 2014; Grabar *et al.*, 2000; Moore y Keruly, 2007; Nicastri *et al.*, 2005; Tuboi *et al.*, 2007; Zoufaly *et al.*, 2011b). Esto se conoce como RID, que es la incapacidad para normalizar la cifra de CD4 tras la supresión de la CV, o para un aumento significativo de CD4 respecto al nadir. Hay diferentes términos empleados en la literatura, pero con un significado común. Existe variabilidad en las cifras que cada grupo establece como objetivo para determinar una reconstitución inmune adecuada. Éstas van desde aumentos en el número absoluto de linfocitos T CD4, normalmente de 50 células/ $\mu\text{L}$ , un porcentaje del basal, o valores superiores a una cifra concreta de linfocitos T CD4, que varía entre 350 y 500/ $\mu\text{L}$ . La disparidad en los valores escogidos dificulta la comparación de los resultados descritos (Baker *et al.*, 2008; Batista *et al.*, 2015; Dronda *et al.*, 2002; F. N. Engsig *et al.*, 2010; EuroCoord, 2012b; Falster *et al.*, 2009; Gilson *et al.*, 2010; Grabar *et al.*,

2000; Gutierrez *et al.*, 2008; Gilbert R Kaufmann *et al.*, 2005; Le *et al.*, 2013; Lederman *et al.*, 2011; V. Leung *et al.*, 2013; Massanella *et al.*, 2013; R. D. Moore y Keruly, 2007; Nakanjako *et al.*, 2008; Negredo *et al.*, 2010; Nicastrì *et al.*, 2005; Y. M. Pacheco *et al.*, 2015; C Piketty *et al.*, 1998; Taiwo *et al.*, 2009; Takuva, Long, *et al.*, 2014; Teixeira *et al.*, 2001; S. Tuboi *et al.*, 2007; Zoufaly, Kollan, Bogner, Fätkenheuer, Wasmuth, Stoll, Hamouda, y van Lunzen, 2011).

El número de linfocitos T CD4 no es sólo un predictor para la aparición de infecciones oportunistas, su importancia radica también en un aumento de la mortalidad global y de eventos no defintorios de SIDA, hasta un 50% más en algunos estudios (Baker, Peng, Rapkin, Krason, Reilly, Cavert, Abrams, Macarthur, *et al.*, 2008; Baker, Peng, Rapkin, Krason, Reilly, Cavert, Abrams, MacArthur, *et al.*, 2008; Batista *et al.*, 2015; Cenderello y de Maria, 2015; F. Engsig *et al.*, 2010; EuroCoord, 2012b; Falster *et al.*, 2009; Gaardbo *et al.*, 2012; Gilson *et al.*, 2010; Grabar *et al.*, 2000; Lapadula *et al.*, 2013, 2015; May *et al.*, 2014; Moore *et al.*, 2005; Nicastrì *et al.*, 2005; Y. M. Pacheco *et al.*, 2015; Zoufaly *et al.*, 2011a).

El número de linfocitos T CD4 y la activación persistente del sistema inmune se relacionan con factores de riesgo cardiovascular y aterosclerosis subclínica, como el aumento del grosor íntima-media y disfunción endotelial (Ho *et al.*, 2012; Ssinabulya *et al.*, 2014), con enfermedad hepática (Badano *et al.*, 2019), renal (Choi *et al.*, 2009), ósea (Arnsten *et al.*, 2007), desarrollo de cataratas (Nakanjako *et al.*, 2014), deterioro cognitivo (McCutchan *et al.*, 2007), neoplasias (Guiguet *et al.*, 2009; Massanella *et al.*, 2013; Shiels *et al.*, 2010) o tuberculosis (Stephen *et al.*, 2009). Estos estudios no reflejaban el momento en el que se producía esta mayor incidencia de eventos/muertes, si era en la fase inicial del tratamiento, como es esperable, o tiempo después de conseguida la supresión virológica (Kelly *et al.*, 2016; Zoufaly *et al.*, 2011a).

Los mecanismos implicados en la RID no son por completo conocidos. Algunos factores epidemiológicos y clínicos claramente relacionados hasta la fecha son la edad, el género masculino o el tiempo durante el que se ha recibido tratamiento antirretroviral (cuanto mayor tiempo continuado reciba un paciente TAR menor será la incidencia de RID). El valor del cociente CD4/CD8, es otro dato constante en la literatura. Cuando se encuentra disminuido, se presenta como un buen predictor de envejecimiento celular y está relacionado a su vez con el tamaño del reservorio y la

inflamación (Cervero *et al.*, 2016; Cockerham *et al.*, 2014; Serrano-Villar, Moreno, *et al.*, 2014; Trickey *et al.*, 2017). Sin embargo, este parámetro no ha logrado sustituir al número total de linfocitos T CD4 en el seguimiento clínico. Un nadir bajo también está descrito como un factor de riesgo para el desarrollo de RID, ya que implica un diagnóstico tardío de la infección y/o una mala adherencia al TAR. Respecto a otros factores, en la mayoría de las ocasiones los resultados son difíciles de interpretar, y es difícil discernir si los datos reflejados por los estudios son la causa o la consecuencia del deterioro del sistema inmune.

La activación linfocitaria y la inflamación implican un estado de senescencia precoz en los pacientes con infección por VIH. Desde un punto de vista inmunológico, las alteraciones son numerosas. Tras la infección, los linfocitos T CD4 que son estimulados pasan mayoritariamente a ser linfocitos T de memoria efectores (predominan sobre los linfocitos T CD4 de memoria central), se aíslan en órganos y sangre periférica y expresan principalmente CCR5, permaneciendo en estado latente. Son los más numerosos en pacientes con respuesta inmunológica discordante. El problema de estos linfocitos es que, a pesar de tener una respuesta rápida en el reconocimiento de antígenos, presentan una capacidad de migración a órganos linfáticos centrales reducida, su vida media es menor y tienen poca capacidad de regeneración. Un pequeño porcentaje de los linfocitos T CD4 vírgenes estimulados pasarán a ser linfocitos T de memoria central, con una expresión menor de CCR5, y son más numerosos en pacientes con una buena recuperación celular tras el TAR (Chomont *et al.*, 2010).

En estos pacientes, se ha descrito una menor actividad tímica, también un tamaño glandular menor. El timo interviene en la repoblación de linfocitos T totales. La viremia supone un estímulo aumentando el número de linfocitos T CD4 vírgenes y RTE. Sin embargo, la glándula de un individuo adulto no tiene la capacidad para sostener la demanda de diferenciación intraglandular, si la carga viral se mantiene elevada durante tiempo. Por lo tanto, existe una disregulación en la homeostasis de los linfocitos T CD4.

En estos pacientes se ha descrito un aumento en el número de linfocitos precursores T reguladores (Treg), aunque con alteraciones funcionales, y es inversamente proporcional al número de linfocitos T CD4 vírgenes (Ferrando-Martinez *et al.*, 2017; Kolte, Ryder, *et al.*, 2009; Méndez-Lagares *et al.*, 2012; Ruiz-Mateos

*et al.*, 2004; Stiksrud *et al.*, 2019). Se ha postulado que este aumento de linfocitos Treg, antes del inicio del TAR, sería un predictor de RID. Sin embargo, este aspecto no se ha desarrollado lo suficiente como para plantear medidas terapéuticas adicionales en estos pacientes (Kolte, Gaardbo, *et al.*, 2009; Marziali *et al.*, 2006; Saison *et al.*, 2014; Sauce *et al.*, 2011a; Schacker *et al.*, 2002).

Por otro lado, la médula ósea desarrolla una menor actividad, por efecto citopático directo sobre los precursores hematopoyéticos, aunque también se observa una alteración de las citoquinas estromales que actúan sobre la hematopoyesis. En conjunto, la actividad de la médula ósea se ve afectada tanto cualitativa como cuantitativamente (Isgrò *et al.*, 2008; Sauce *et al.*, 2011a). Otro hecho a destacar, es el menor tráfico de células entre sangre periférica y órganos linfoides. Se ha descrito un aumento en la destrucción periférica y un aumento en la apoptosis (Pitrak *et al.*, 2001). Los linfocitos de pacientes con RID son más susceptibles y existe una mayor proporción de células senescentes. Muestran una menor respuesta al estímulo con IL-2 (Fernandez, Price, *et al.*, 2006), un acortamiento de los telómeros, aumento en la expresión de PD-1 (death protein) (Hatano *et al.*, 2012) y de la actividad en las células NK sobre los linfocitos T CD4, que podría ser mediada por una mejor unión a la superficie de IgG (Luo, Zhou, *et al.*, 2017).

El aumento de depósito de colágeno en órganos linfoides y como consecuencia, de fibrosis, limita la concentración de fármacos a este nivel, y una vez más volvemos a la dificultad para la erradicación del reservorio por parte del sistema inmunológico. El cambio en el microambiente de los órganos linfoides también dificulta la regeneración de los linfocitos T CD4 (Barouch y Deeks, 2014; Schacker *et al.*, 2002, 2005).

FIGURA 7. ESQUEMA DE LOS MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA RID (MASSANELLA ET AL., 2013)

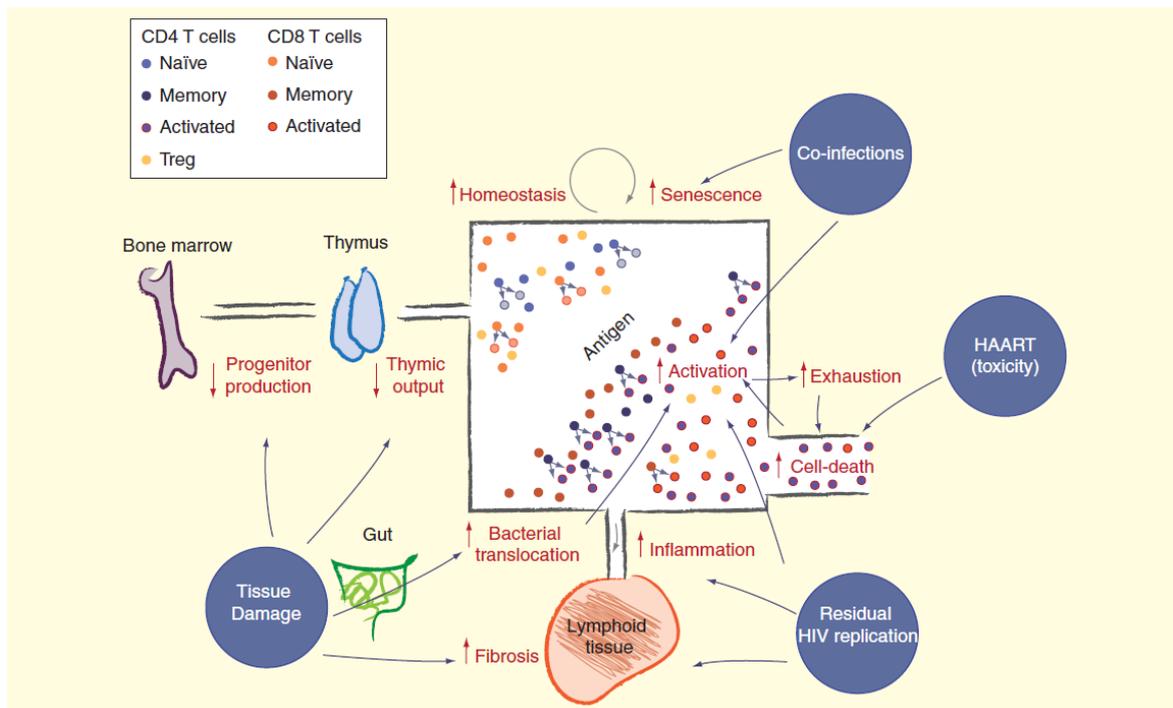


TABLA 1. CAMBIOS CELULARES Y EN CITOQUINAS DESCRITOS EN LA RID

↓	T CD4 RTE/virgen (CD45RA+ CD31+)	Disfunción tímica
↓	T CD4 memoria (CD45RO+ CD27+)	Disminución de linfocitos T memoria
↓	TREC	Círculos de escisión del receptor del linfocito T
↓	Respuesta linfocitos T helper	Th1, Th2, Th17
↓	Producción de IL-7	Y aumento en sangre sin aumento del receptor
↓	Producción de IL-2	Producido por todos los linfocitos, e imprescindible para la proliferación de los linfocitos Th1
↓	Producción de INF $\gamma$	Producido por células NK y linfocitos Th1
↑	Treg	Regulación
↑	CD8+CD38+HLADR+	Marcadores de activación
↑	TCD4 apoptóticas	

Recientemente se ha descrito la presencia de autoanticuerpos IgG frente al linfocito T CD4 en pacientes con infección crónica que reciben tratamiento antirretroviral. La cantidad de estos autoanticuerpos es mayor en pacientes con respuesta inmunológica discordante y parece estar directamente relacionado con los parámetros de translocación bacteriana. Este proceso está relacionado con microbiota del paciente, ya que, al aumentar la translocación bacteriana, se favorecería la activación de linfocitos B a través de señales producidas por la flora bacteriana. Como consecuencia, se produciría un aumento en las inmunoglobulinas autorreactivas, que favorecerían un incremento de la citolisis y apoptosis mediada por células NK, siendo su efecto más acusado en las células T CD4 vírgenes (Luo, Li, *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2018).

Otra cuestión que dificulta la comparación entre las poblaciones estudiadas es el gran cambio que se ha producido en los esquemas de tratamiento antirretroviral. Las guías vigentes recomiendan el inicio del tratamiento antirretroviral de forma cada vez más precoz, y en la mayoría de ellas, de manera universal (Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida, 2019).

Algunos estudios han intentado identificar si algunos fármacos son más eficaces en alcanzar esta respuesta o por el contrario tienen un papel en la RID. Hay evidencias de mejora en los parámetros de activación inmune (como podría ser un menor número de linfocitos T CD4 o T CD8 activadas, de marcadores de envejecimiento o disminución de la apoptosis), pero sin conseguir un aumento significativo en el número absoluto de linfocitos T CD4. Ciertamente es que se han estudiado poblaciones de pequeño tamaño y el seguimiento de estos pacientes ha sido durante un periodo de tiempo limitado (Eugènia Negredo *et al.*, 2013; Rusconi *et al.*, 2013; Tuboi *et al.*, 2007; Wilkin *et al.*, 2012; Yukl *et al.*, 2010).

Cabe señalar que en un ensayo controlado en el que se intensificó el tratamiento habitual con maraviroc (MRV) durante 24 semanas, se detectó un aumento en la actividad de las células T CD8 que es un resultado opuesto a lo esperado (Hunt, Deeks *et al.*, 2013). Por otro lado, en una comparativa reciente con efavirenz (EFV), en la que el objetivo fue valorar las tasas de normalización del cociente CD4/CD8, los autores describen que fue superior a su comparador, el MRV, a costa del descenso en el número de linfocitos T CD8 (Serrano-Villar, Caruana, *et al.*, 2017).

De manera aislada el raltegravir (RAL) ha demostrado una disminución en la activación de linfocitos T CD8 y un aumento de los linfocitos T CD4 tras varias semanas (Massanella *et al.*, 2012; Eugènia Negrodo *et al.*, 2013), lo cual podría explicarse por una mayor penetración en la mayoría de los compartimentos anatómicos.

En el caso de la intensificación del tratamiento antirretroviral con enfuvirtide tampoco se consiguieron resultados satisfactorios (Joly *et al.*, 2013).

Se han ensayado otros tratamientos adicionales al TAR, como es el caso de la intensificación con IL-2, con el que se consigue un aumento en el número total de linfocitos, pero no se objetivó una diferencia significativa en cuanto a la aparición de eventos clínicos (Abrams *et al.*, 2009), como se reflejaba en otro estudio anterior (Marchetti *et al.*, 2002). Se han barajado varias hipótesis, una de las cuales podría ser que la IL-2 estimulase principalmente linfocitos T CD4 vírgenes o de memoria a través de antígenos poco relevantes, o que tuviese un papel proinflamatorio. El problema principal del tratamiento con IL-2 es la expansión de linfocitos Treg, que como linfocitos T CD4, presentan receptores para IL-2, suprimiendo las respuestas generales de las células T. En 2017 se publicó una revisión Cochrane sobre este tema, concluyendo que las evidencias no respaldan el tratamiento ya que no se ha demostrado una mejoría en aspectos clínicos clave como la aparición de infecciones oportunistas o en mortalidad (Onwumeh *et al.*, 2017).

Se han llevado a cabo también ensayos con administración exógena de IL-7, en los que se describe un aumento en el número de linfocitos T CD4, en concreto CD4 vírgenes y CD4 memoria, con lo que parece una adecuada funcionalidad. Sin embargo, también se ha objetivado un aumento en las cifras de CD8 y existen repuntes de carga viral en algunos individuos (Usfbunfou *et al.*, 2009). En otros estudios tan sólo se ha podido demostrar un aumento en el número de linfocitos de memoria central (I Sereti *et al.*, 2009). En otro trabajo, que da a conocer los resultados de los ensayos clínicos INSPIRE 2 e INSPIRE 3, se administró un ciclo de IL-7 a pacientes con un número de linfocitos T CD4 entre 101 y 400 (se añadía un ciclo adicional si el número de linfocitos T CD4 era inferior a 500 células). Se observó que el 63% de estos pacientes mantiene unos valores por encima de 500 durante el seguimiento, que fue algo inferior a 2 años (Thiebaut *et al.*, 2016). En general, estos trabajos tienen un periodo de seguimiento limitado, lo que les impide detectar

diferencias clínicamente relevantes a medio y largo plazo. Otra limitación de los mismos es que no informan sobre eventos clínicos más allá de los posibles efectos adversos relacionados con la administración de IL-7.

Se han realizado proyectos de investigación con otras moléculas. En el caso de la hormona del crecimiento, la hipótesis es que podría mejorar, a través de su efecto sobre el volumen del timo y la producción de células T vírgenes (Napolitano *et al.*, 2008; Smith *et al.*, 2010). También se han hecho ensayos con algunos polisacáridos (Lewis JE *et al.*, 2019) o probióticos (D'Ettoire *et al.*, 2017; Stiksrud *et al.*, 2015) y antibióticos como la rifaximina (Tenorio *et al.*, 2015) en los que se plantea que, al igual que en los pacientes cirróticos, podrían disminuir el efecto de la translocación bacteriana. Los resultados en cuanto a los parámetros de activación son variables. Tampoco han resultado eficaces los fármacos antifibróticos (Schacker *et al.*, 2002, 2005) o las estatinas (Baker *et al.*, 2012; Ganesan *et al.*, 2011; Nakanjako *et al.*, 2015) y ninguno ha demostrado ser eficaz y seguro en conseguir los objetivos planteados, tampoco se han traducido en un cambio relevante desde el punto de vista clínico.

En el caso del estudio ya citado de (Baker *et al.*, 2012) incluye varias ramas de tratamiento con pravastatina, lisinopril y placebo en pacientes no hipertensos, y demuestra una disminución de marcadores de inflamación como IL-6 y la proteína C reactiva (PCR) sensible. Otro ensayo realizado ha sido el realizado con sitagliptina en pacientes con glucemia alterada, en los que igualmente se ha observado una disminución de la PCR entre otros parámetros (Best *et al.*, 2015).

Los inmunosupresores e inmunomoduladores también han sido objeto de estudio. El micofenolato mofetilo (Kaur *et al.*, 2006), la ciclosporina (Rizzardi *et al.*, 2000), la hidroxurea (Havir *et al.*, 2001) o la hidroxiclороquina (Piconi *et al.*, 2011; Savarino y Shytaj, 2015). En conjunto estos fármacos han disminuido la cantidad de citoquinas inflamatorias y la intensidad en la apoptosis, pero, bien se trata de efectos transitorios, bien no han demostrado relevancia clínica durante el seguimiento, generalmente de corta duración. En el caso de la cloroquina parece que puede haber algún estudio más prometedor, pero sin haber validado las dosis concretas que podrían conducir a un beneficio clínico. Además, en algunos casos se ha observado un aumento en los valores de CV (Jacobson *et al.*, 2016; Murray *et al.*, 2010).

El tratamiento con valganciclovir (no sólo de infección activa con una carga viral detectable de CMV, sino también la presencia de IgG positiva para CMV) se ha relacionado con mejoría en los parámetros de activación en estos pacientes (Hunt, Martin, *et al.*, 2011). Se ha valorado como favorable, el tratamiento frente al VHC o el aclaramiento espontáneo de la replicación viral en pacientes coinfectados que logran una respuesta viral sostenida (Badano *et al.*, 2019; Garcia-Broncano *et al.*, 2020; Miller *et al.*, 2005; Nicolás *et al.*, 2016; Potter *et al.*, 2010). En definitiva, si se disminuye la activación del sistema inmune causado por infecciones crónicas, se disminuye la posibilidad de reactivación del virus latente y además se disminuye el envejecimiento celular.

En resumen, existe una disminución en la producción y vida media de células T vírgenes y un aumento en su destrucción. Existen propuestas prometedoras, como las relacionadas con la activación de células dendríticas que mediarían en la actividad de células T memoria y estimularían los linfocitos T CD4 vírgenes. Estas células, que en el paciente VIH están disminuidas en comparación con pacientes seronegativos, podrían promover un control de carga viral a varios meses vista en pacientes sin tratamiento antirretroviral (Da Silva *et al.*, 2018).

Disponemos de una gran cantidad de evidencias en este campo, aunque parece que todavía quedan muchas preguntas sin contestar. Una cosa sí está clara, hay evidencias suficientes para afirmar que una intervención precoz en el diagnóstico y tratamiento de estos pacientes es, a día de hoy, el mecanismo más eficaz para reducir el deterioro cualitativo y cuantitativo del sistema inmune (Hocqueloux *et al.*, 2013; Jain *et al.*, 2013; Le *et al.*, 2013; E. Lee *et al.*, 2020; E. Negredo *et al.*, 2010; The INSIGHT START Study Group, 2015; The TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, 2015).

TABLA 2. RESUMEN DE TERAPIAS INMUNOMODULADORAS ENSAYADAS PARA AUMENTAR EL NÚMERO DE CD4. ADAPTADA DE MASSANELLA *ET AL.*, (MASSANELLA *ET AL.*, 2013)

Fármacos inmunomoduladores	Mecanismo de acción
IL-7	Aumento diferenciación de LT en el timo
IL-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>↑ proliferación T</li> <li>↑Apoptosis de LT</li> <li>↑respuesta VIH específica</li> <li>↑ presentación antigénica</li> <li>↑ producción de citoquinas por Th1</li> <li>↑NK CD56</li> <li>↑ Tregs</li> </ul>
IL-12	↑Respuesta T citotóxica a VIH y no VIH
IL-10	↓ producción de citoquinas proinflamatorias
IL-15	<ul style="list-style-type: none"> <li>↑ LTCD4 de memoria efectoras</li> <li>↑ de perforina de LT citotóxicos</li> <li>↑replicación T</li> </ul>
IL-16	<ul style="list-style-type: none"> <li>↑respuesta a IL-2</li> <li>↓Apoptosis por activación</li> </ul>
IL-21	<ul style="list-style-type: none"> <li>↑ de perforina de LT citotóxicos</li> <li>↓Treg</li> </ul>
Hormona de crecimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>↑expansión del pool CD4</li> <li>↑respuesta VIH específica de CD4</li> <li>↑hematopoyesis en médula ósea (tanto T como B)</li> </ul>

TABLA 3. RESUMEN DE TERAPIAS FARMACOLÓGICAS ENSAYADAS PARA AUMENTAR EL NÚMERO DE CD4. ADAPTADA DE MASSANELLA *ET AL.*, (MASSANELLA *ET AL.*, 2013)

Fármacos	Mecanismo de acción
Corticoides	↓ producción de citoquinas proinflamatorias ↓ Muerte linfocitaria inducida por activación
Micofenolato mofetilo	↓ proliferación de linfocitos por estimulación de antígenos ↑ Apoptosis de LT activados
Ciclosporina	↓ células diana ↓ la activación celular y proliferación ↓ maduración viral
Hidroxiurea	↓ proliferación celular ↓ concentración intracelular de nucleótidos
Hidroxyclorequina	↓ producción de citoquinas inflamatorias ↓ Niveles de IgG Modulación de la actividad de las células NK
Talidomida	↓ producción de TNF- $\alpha$



## 8. OBJETIVOS:

Analizar clínica e inmunológicamente una cohorte de pacientes VIH positivos con respuesta inmune discordante y compararlos con una cohorte de pacientes que, partiendo de un nadir bajo de linfocitos T CD4 ( $<300/\mu\text{L}$ ), consiguen una respuesta inmune adecuada.

Objetivos secundarios:

- Evaluar los factores clínicos presentes en pacientes con respuesta inmune discordante: características epidemiológicas, factores relacionados con el tratamiento de la infección por VIH, infecciones oportunistas, evolución y mortalidad.
- Analizar si existen diferencias en la respuesta inmune desde un punto de vista cuantitativo y desde un punto de vista funcional en diferentes compartimentos de la respuesta inmune (linfocitos B, linfocitos T, linfocitos NK, neutrófilos y monocitos) entre los pacientes con respuesta inmune discordante en comparación con los pacientes con respuesta inmune adecuada.



## 9. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS:

Se diseñó un estudio trasversal en pacientes VIH+ que recibían tratamiento antirretroviral en los hospitales de referencia de las áreas sanitarias de León y El Bierzo (las dos áreas sanitarias de la provincia de León). El estudio se inició en abril de 2015, momento en el que se revisaron todos los pacientes diagnosticados de VIH tipo 1 en seguimiento en ambas áreas de salud. Inicialmente en el estudio se incluyeron todos aquellos que cumplían unos criterios de inclusión predefinidos y que aceptaron participar en el proyecto firmando el consentimiento informado. Se reevaluó la situación clínica de estos pacientes en septiembre de 2021 (6 años y 5 meses después).

Los criterios de inclusión fueron: edad mayor de 16 años, seguimiento en las consultas externas de los dos centros desde al menos dos años anteriores de forma que dispusiésemos de cifras de CV en ese periodo, adecuada adherencia al TAR (recogida en farmacia hospitalaria en porcentaje) y que además estuviesen interesados en participar y firmasen el consentimiento informado.

Los criterios de exclusión fueron: el rechazo del paciente a la participación en el estudio o a la firma del consentimiento informado, no disponer de cifras de CV en los 2 años previos, estar recibiendo en el momento de la selección tratamientos con toxicidad medular o padecer otras enfermedades que tuviesen afectación medular, infección por VIH tipo 2.

La muestra total incluye dos cohortes:

La cohorte 1 está formada por todos los pacientes con infección VIH tipo 1, mayores de 16 años en seguimiento en consulta que recibían tratamiento antirretroviral de manera ininterrumpida al menos en los dos años previos a la selección, y que presentaron una CV indetectable y unos linfocitos CD4 persistentemente por debajo de 300 células/ $\mu$ L durante al menos los dos años anteriores a su inclusión en el estudio. Estos pacientes eran los que presentaban una RID, *definida en este estudio, ante la falta de consenso, como CV de VIH indetectable y linfocitos CD4 menores de 300 células/ $\mu$ L tras al menos 2 años de adherencia al TAR.*

La cohorte 2 está formada por todos los pacientes con infección VIH tipo 1, mayores de 16 años en seguimiento en consulta que recibían tratamiento antirretroviral de manera ininterrumpida al menos en los dos años previos a la selección, y que presentaron una carga viral indetectable y unas cifras de CD4 superiores a 500 células/ $\mu$ L. Estos pacientes debían haber partido de un nadir bajo (menor de 250 CD4/ $\mu$ L).

El estudio ha sido aprobado por el Comité de Investigación y Ensayos Clínicos del Complejo Asistencial Universitario de León- Hospital El Bierzo. Todos los pacientes incluidos en el estudio son mayores de edad, han sido informados verbalmente y por escrito según la Declaración de Helsinki, y han firmado el documento de Consentimiento Informado aceptado en dicho comité (Anexo 1).

VARIABLES CLÍNICAS:

VARIABLES CLÍNICAS GENERALES

Fecha de nacimiento, sexo biológico, etnia, consumo de tóxicos de manera activa o consumo en el pasado (tabaco, una cantidad superior a 20 miligramos (mg) de etanol al día, cannabis, cocaína, heroína, otros tóxicos), comorbilidades en el momento de la obtención de muestras y en septiembre de 2021 (factores de riesgo cardiovascular: HTA, DM-2, dislipemia; cardiopatía; enfermedad renal crónica; neoplasia activa o pasada, infecciones, entidades definitorias de sida). También datos sobre coinfección por VHC, tratamientos recibidos para la infección por VHC, respuesta a los tratamientos del VHC, CV del VHC en el momento de la toma de muestras; Coinfecciones: VHB crónica, control de la infección por VHB, estado serológico para CMV y toxoplasma, antecedentes de infección por sífilis y tuberculosis. Esta información se ha recopilado de forma retrospectiva mediante la revisión de la historia clínica de los pacientes incluidos en el estudio.

VARIABLES CLÍNICAS RELACIONADAS CON LA HISTORIA DE LA INFECCIÓN POR EL VIH

VARIABLES RELACIONADAS CON LA VÍA DE ADQUISICIÓN Y LA SITUACIÓN AL DIAGNÓSTICO: vía de transmisión del VIH, año de diagnóstico, CD4 al diagnóstico, ratio CD4/CD8 al diagnóstico, CV al diagnóstico, nadir de CD4, meses de carga viral suprimida de manera continua, diagnóstico precoz, es decir con una cifra de linfocitos CD4 superior a 500 células/ $\mu$ L; TAR: fármacos antirretrovirales recibidos a lo largo de la evolución, número de esquemas de TAR recibidos a lo largo de la infección, número de esquemas de TAR recibidos por fracaso virológico, esquema terapéutico que recibía

el paciente en el momento de la obtención de muestras, adherencia inadecuada en el pasado. Esta información se ha recopilado de forma retrospectiva mediante la revisión de la historia clínica de los pacientes incluidos en el estudio. La adherencia, además, se ha valorado de acuerdo con los servicios de farmacia hospitalaria de los dos centros hospitalarios.

### Variables analíticas

En todos los pacientes incluidos en el estudio se analizaron en sangre periférica las siguientes variables:

Sistemático de sangre: hemoglobina, leucocitos, cifra absoluta de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y plaquetas.

Parámetros inmunológicos:

- Determinación de inmunoglobulinas A, M y G, y subclases de inmunoglobulina G (mg/mL), mediante nefelometría (BNII, Dade Behring-Siemens).
- Cuantificación de diferentes poblaciones linfocitarias en valores relativos (%) y absolutos (células/ $\mu$ l) a partir de una muestra de sangre periférica anticoagulada con EDTA. Este estudio se realizó mediante citometría de flujo (Beckton Dickinson FACS canto II) usando combinaciones de anticuerpos monoclonales marcados con diferentes fluorocromos y dirigidos frente a distintos clústeres de diferenciación (CD) expresados en la superficie de los linfocitos.
  - Cuantificación relativa (%) y absoluta (células/ $\mu$ L), de linfocitos T y subpoblaciones T (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+), ratio CD4/CD8, linfocitos B (CD19+) y linfocitos NK (CD3-CD16/56+).
  - Análisis de células T vírgenes (CD3+CD4+ CD45RA+) y de memoria (CD3+ CD4+ CD45RO+).
  - Análisis del receptor de linfocito T (TCR CD3: TCR *alfa-beta*, TCR *gamma-delta*).
  - Análisis de la activación de linfocitos T: marcadores de activación linfocitaria (DR/CD25/CD69) de forma aislada y agrupadas en linfocitos T dobles y triples positivos. Todas las determinaciones se realizaron tanto en CD4 como en CD8.
  - Cuantificación de poblaciones de linfocitos T helper funcionales (Th1, Th2, Th17, Th22, Treg). Los linfocitos Th1 fueron definidos como CD3+ CD4+ CCR7+ CXCR3+ CCR6+; los Th2: CD3+ CD4+ CCR7+ CXCR3- CCR6-; los Th17 CD3+ CD4+ CCR7+

CXCR3- CCR6+; los Th22: CD3+ CD4+ CCR7+ CCR10+ CCR6+; los Treg CD3+ CD4+ CD25+++ CD127- CCR4 + RO+.

- Análisis de linfocitos T emigrantes recientes del timo (RTE): CD3 + CD31+ CD45 RA+.

TABLA 4. ESTIRPES CELULARES Y MARCADORES.

Estirpe celular	Marcadores
Linfocitos T	CD3+
Linfocitos T inmaduros	CD3+ CD4- CD8-
CD4 vírgenes	CD45RA+ CD27-
CD4 memoria central	CD45RO+ CD27+
CD4 vírgenes efectores contacto	CD45RO+ CD27-
Células T activadas	CD38+/HLADR+/CD69+/CD25+
Células senescentes	CD28-, CD57+
Linfocitos T emigrantes del timo	CD3+ CD45RA+ CD31+

- Determinación de la actividad de células NK, mediante citometría de flujo. El ensayo se realizó con el kit NKTEST® (Orpegen, GLYCOTOPE biotech). Determina la actividad citotóxica de las células NK cuando se cocultivan con la diana K562 (eritroleucemia humana que no expresa HLA clase I y por ello, susceptible a la citotoxicidad no restringida por HLA I). El ensayo se realizó incubando durante 3 horas a 37 ° C diferentes cantidades de linfocitos de sangre periférica purificados en Ficoll con una cantidad constante de células diana K562. Se estudiaron las relaciones efectora-diana 12.5:1, 25:1 y 50:1. Además, con objeto de valorar aún más la capacidad funcional de los linfocitos NK, se estudió el incremento de citotoxicidad tras activación de las células NK con IL-2. Según el fabricante, los resultados de normalidad esperables en este experimento son:

TABLA 5. VALORES DE NORMALIDAD DE CITOTOXICIDAD NK CON O SIN ADICIÓN DE IL-2

E:T ratio	% actividad específica	% actividad específica +IL-2
12.5:1	5.6-14.3	8.4-20.6
25:1	9.9-26.1	14.8-33.4
50:1	13.7-33.5	23.2-48

- Fagocitosis de granulocitos y monocitos, analizada mediante citometría de flujo con el kit PHAGOTEST® (Orpegen GLYCOTOPE Biotech) que permite la determinación del porcentaje de fagocitos que en sangre total heparinizada son capaces de fagocitar a la bacteria *E coli* opsonizada y marcada con FITC, así como el número relativo de bacterias fagocitadas (valorada en términos de Intensidad Media de Fluorescencia, FL1). Los valores de normalidad según el fabricante son los siguientes:

TABLA 6. VALORES DE NORMALIDAD EN GRANULOCITOS Y MONOCITOS.

Tipo de célula	% células que fagocitan	Intensidad de FL1
Granulocitos	95-99%	250-600
Monocitos	65-95%	150-350

- Interferon-gamma release assay (IGRA): QuantiFERON-TB Gold (QFT®). Se incubaron las muestras a 37°C con 3 tubos que contenían mitógeno como control positivo, un control negativo (Nil), y un pool de péptidos de las proteínas ESAT y CFP6 de *Mycobacterium tuberculosis* durante 24 horas. Al cabo de este tiempo se recogió el sobrenadante y se cuantificó mediante ELISA para determinar la cantidad de INF $\gamma$  secretado por los linfocitos T de memoria reestimulados. Los resultados se expresaron en UI/MI, y se interpretaron como positivo, negativo o indeterminado en función de un algoritmo (Tabla 7). Pueden existir falsos positivos en infecciones por *M kansasii*, *M szulgai* y *M marinum*.

TABLA 7. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS PARA DETERMINAR LOS RESULTADOS DEL INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAY (IGRA).

Basal control negativo UI/mL	TB Antígeno	Mitógeno	Resultado IGRA
≤ 8	<0.35	≥ 0.5	Negativo
	≥ 0.35 y < 25% de Nil	≥ 0.5	Negativo
	≥ 0.35 y ≥ 25% o Nil	Cualquier valor	Positivo
	<0.35	<0.5	Indeterminado
	≥ 0.35 y < 25% o Nil	<0.5	Indeterminado
>8	Cualquier valor	Cualquier valor	Indeterminado

- **Parámetros virológicos:**

Determinación de la carga viral plasmática de VIH mediante PCR cuantitativa a tiempo real (AmpliPrep Cobas TAQMan 48 de ROCHE), con un rango de determinación de entre 20 y 20.000.000 de copias de ARN/mL.

### **Metodología estadística**

Los datos se organizaron y analizaron utilizando el software estadístico R v. 4.1.2. utilizando tests no paramétricos.

Se realizó un primer análisis de las cohortes utilizando el test no paramétrico de Wilcoxon con un límite de significación de  $p \leq 0,05$ .

### **Correlaciones**

Se realizó un análisis de correlaciones utilizando la  $\rho$  (rho) de Spearman y las correlaciones con  $p \geq 0,05$  se ignoraron. Se realizó primero un análisis general de todas

las variables, y luego análisis por grupos de variables que se consideraron naturalmente asociadas, separándolo por cohortes:

- Linfocitos T y subpoblaciones
- Células NK y citotoxicidad NK
- Linfocitos B e inmunoglobulinas

La intensidad de la significación estadística se representó mediante el tamaño del círculo. Cuando existió una asociación entre dos variables se representó en color azul, más oscuro cuanto más positiva fuese esta, y en color naranja cuando la asociación fue negativa.

### Análisis de componentes principales

Con propósito descriptivo, realizamos un análisis de componentes principales. Esta técnica permite reducir un gran número de variables a unas pocas relaciones lineales entre ellas, los componentes principales. Los componentes principales no están correlacionados y capturan cantidades decrecientes de la varianza original. Los primeros componentes principales (con una parte relevante de la varianza) se pueden utilizar para explorar un conjunto de datos y reducir su dimensionalidad, simplificando su evaluación. Escogimos los tres primeros componentes principales derivados de nuestra base de datos para determinar la separación entre las observaciones de cada cohorte y de qué variables podrían depender en mayor manera.

### Modelos lineales

Para determinar el efecto de los factores de interés en las variables analizadas en este trabajo, utilizamos un análisis de regresión (modelos lineales generalizados), con una etapa de descarte y adición de las variables explicativas para escoger el modelo más adecuado. El algoritmo utilizado aplica el criterio de información de Akaike para optimizar el modelo en cada iteración.

Factores utilizados inicialmente:

Cohorte, edad, años desde el diagnóstico, años de carga viral suprimida, años de TAR, años de TAR continuo, años de TAR activo, primer registro de CV, nadir,

número total de esquemas TAR, número total de esquemas TAR activos, adhesión clínica, resistencias.

### Box-whisker plots

Las gráficas de cajas y bigotes (box-whisker plots) muestran la distribución de los datos de los grupos a comparar. La caja abarca entre el 1<sup>er</sup> y 3<sup>er</sup> cuartiles (definiendo el intervalo intercuartil, IQR, con el 50% de las observaciones). La línea horizontal indica la mediana (2<sup>o</sup> cuartil). Los bigotes se extienden hasta la observación más extrema dentro de un intervalo  $1,5 \times \text{IQR}$ . Las observaciones que quedan fuera de este intervalo se pueden considerar fuera de rango, aunque en este trabajo no fue un criterio de eliminación.

### Modelos lineales de efectos mixtos (TAR)

El efecto del TAR y tratamiento activo en la probabilidad de pertenecer a cada cohorte se evaluó mediante modelos lineales generalizados de efectos mixtos. El grupo TARGA y si el tratamiento estaba activo, así como su interacción, se consideraron efectos fijos, con el paciente como efecto aleatorio.

### **Metodología de estilo y citas.**

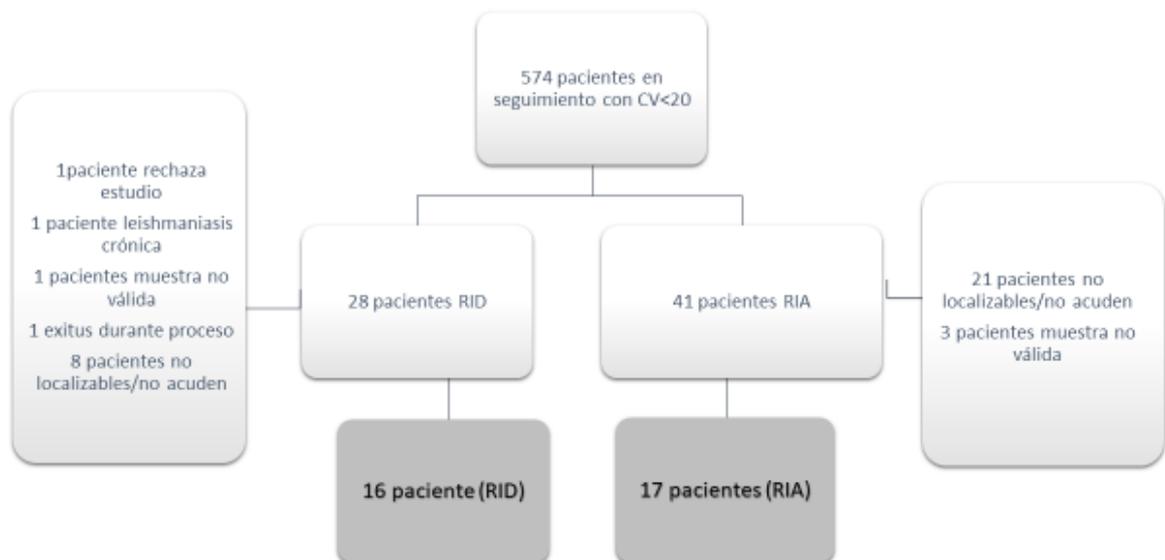
La bibliografía se referencia según las directrices de la 6.<sup>a</sup> edición del Publication Manual of the American Psychological Association y según el manual de estilo de la Universidad de León.

## 10.RESULTADOS

### 10. 1. Pacientes estudiados

Se identificaron un total de 574 pacientes con carga viral indetectable, 425 pacientes en el área sanitaria de León y 149 pacientes en el área sanitaria de El Bierzo. De todos ellos, 28 pacientes cumplieron criterios de RID (14 en El Bierzo y 14 en León), y se obtuvieron muestras válidas en 16 casos (6 en León y 10 en El Bierzo). Del resto de pacientes identificados, uno estaba diagnosticado de una leishmaniasis crónica, uno rechazó participar en el estudio, ocho no pudieron localizarse o no acudieron el día de la extracción de muestras y uno falleció durante el transcurso del estudio. Figura 8.

FIGURA 8. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES TOTALES Y FINALES CON RID EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.



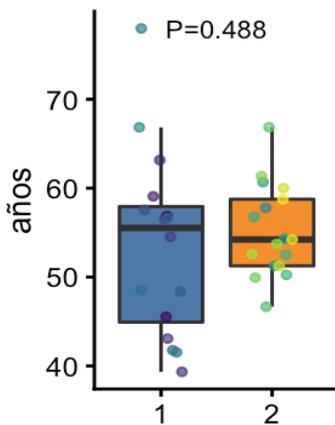
Cumplieron criterios de RIA sólo 41 pacientes (26 en el Hospital del Bierzo y 15 en el de León). Se obtuvieron muestras válidas en 17 casos (11 en El Bierzo y 6 en León). Del resto de pacientes identificados, 21 pacientes no pudieron localizarse o no acudieron el día de la extracción de muestras y en tres casos la muestra no fue válida. Figura 8. La tasa de RID fue del 4,88%.

## 10.2. Variables clínicas

La edad media de los pacientes en el momento de la realización del estudio fue de 53.58 (SD 10,50) años en la cohorte 1 y de 55.23 (SD 5,14) en la cohorte 2, no encontrando diferencias significativas entre ambos grupos ( $p=0,49$ ). Figura 9.

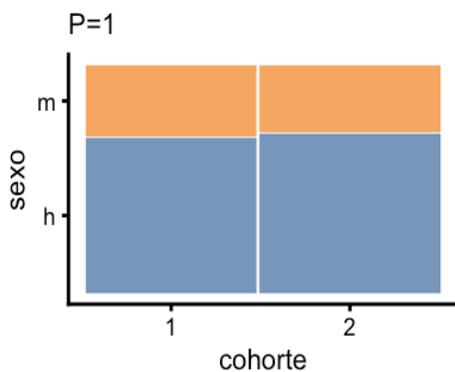
En la cohorte 1 se incluyeron 12 varones y 5 mujeres y 11 varones y 5 mujeres en la cohorte 2, no existiendo diferencias significativas en la proporción de sexo biológico en cada grupo ( $p=1$ ). Figura 10.

FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN DE EDAD EN AMBAS COHORTES.



Azul: cohorte 1; naranja: cohorte 2.

FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DE SEXO BIOLÓGICO EN AMBAS COHORTES.



Azul: hombres; naranja: mujeres.

En cuanto a la etnia, en la cohorte 1 se identificaron 14 pacientes de etnia caucásica y 3 de etnia gitana, mientras que en la cohorte 2, 13 pacientes eran caucásicos y 3 de etnia gitana. Tampoco se encontraron diferencias entre ambos ( $p=0,67$ ) Tabla 8.

El consumo de tóxicos se analizó en dos etapas. Por una parte, el consumo de tóxicos de manera activa en el momento de extracción de las muestras. No hubo diferencias significativas en el consumo de alcohol, tabaco, cocaína o en el de drogas por vía parenteral. En este último caso, ningún paciente consumía tóxicos por esta vía en el momento de la extracción. Sin embargo, en cuanto al consumo de drogas en etapas previas, encontramos diferencias significativas en el consumo de alcohol mayor de 20 gr al día, que fue mayor en la cohorte 1 ( $p<0,001$ ).

En la cohorte 1 tres pacientes tenían diagnóstico previo de neoplasias (carcinoma de pene, de cérvix y hepatocarcinoma), y dos en el caso de la cohorte 2 (linfoma no Hodgkin y carcinoma de pene). Respecto a los factores de riesgo cardiovascular o enfermedad cardiovascular establecida, en la cohorte 1 se identificaron dos pacientes (uno diabético y otro con antecedentes de un síndrome coronario agudo) y en la cohorte 2, ocho pacientes de los cuales tres tenían dos factores de riesgo (un paciente hipertenso, cinco con dislipemia, uno con obesidad y tres diabéticos tipo 2) ( $p=0,056$ ). En relación con la enfermedad renal crónica, se identificó un paciente en la cohorte 1 y dos pacientes en la cohorte 2 ( $p=1$ ).

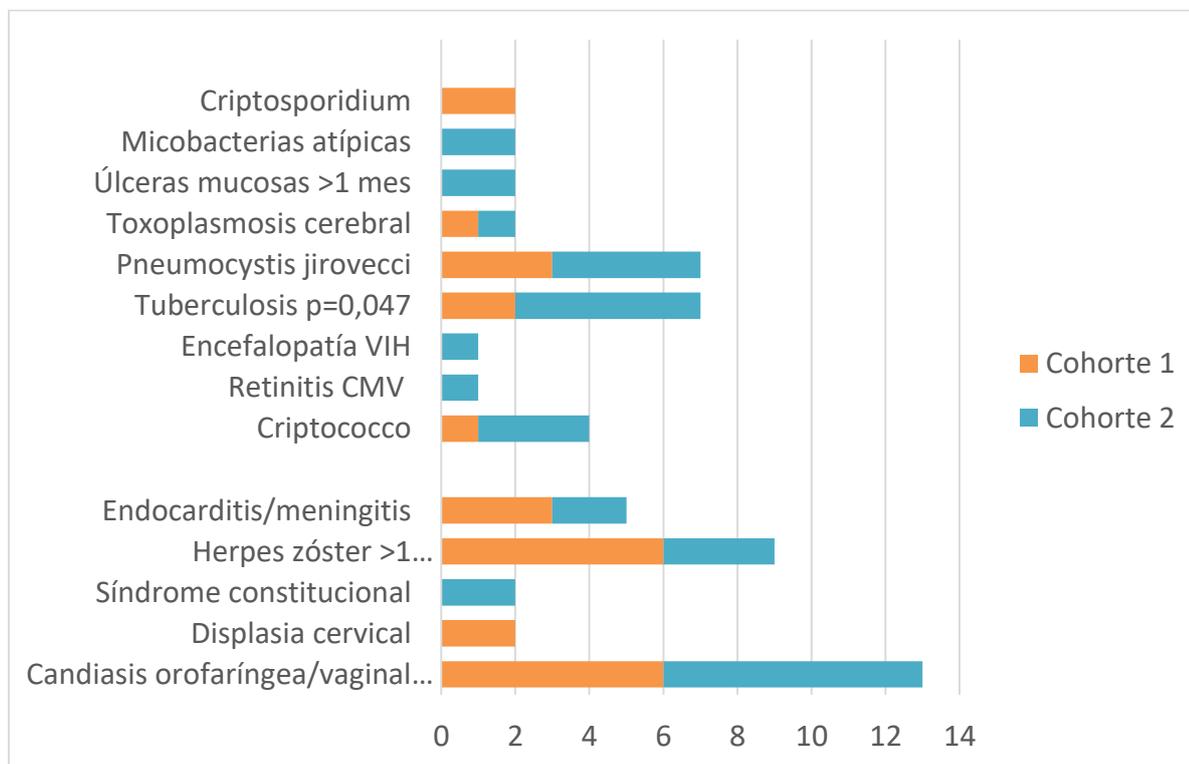
También se registró el antecedente de infecciones no oportunistas (o no definitorias de sida) previo a la toma de muestras. En la cohorte 1, tres pacientes fueron diagnosticados de alguna infección (un caso de brucelosis, una enfermedad inflamatoria pélvica y una fiebre tifoidea). En la cohorte 2, cinco pacientes (una neumonía neumocócica, condilomas acuminados en dos pacientes, una infección aguda por Parvovirus B19, y un zóster no recurrente) ( $p=0,44$ ).

Respecto a las entidades clínicas relacionadas con sida según el Center for Disease Control and Prevention, diez pacientes se incluyeron en la categoría B en la cohorte 1 y cinco en la cohorte 2; seis pacientes fueron asignados al estadio C en la cohorte 1 y doce en la cohorte 2 ( $p=0,087$ ). Las enfermedades identificadas se incluyen en la figura 11.

TABLA 8. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y CONSUMO DE TÓXICOS. MEDIA  $\pm$  DS

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
N	16	17	
Edad	53,58 (10,50)	55,23 (5,14)	0,49
Sexo biológico mujer	5	5	0,91
Etnia caucásica	14	13	0,67
Consumo alcohol previo	11	1	<b>0,001</b>
Consumo drogas parenterales previo	9	4	0,06
Consumo cocaína previo	2	2	0,98
Consumo de marihuana actual/previo	1	0	0,30
Consumo tabaco actual	10	12	0,33

FIGURA 11. EVENTOS DEFINITORIOS DE SIDA SEGÚN EL CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC).



Existían antecedentes de infección por el virus de la hepatitis B (VHB) en 2 pacientes de la cohorte 1, y en 2 pacientes de la cohorte 2 ( $p=0,23$ ), pero en ningún caso se trataba de infección activa en el momento de la selección. Del resto, 10 pacientes en la cohorte 1 y 6 en la dos estaban vacunados frente a VHB.

Respecto a la coinfección por VHC, se identificaron diez pacientes en la cohorte 1 y ocho en la cohorte 2 ( $p=0,49$ ), y en todos los casos, la CV fue negativa. En la cohorte 1, dos pacientes recibieron tratamiento con antivirales de acción directa antes de la selección y en el caso de la cohorte 2 fueron cinco los que completaron este tratamiento ( $p=0,39$ ). Previamente habían recibido tratamiento con interferón un paciente en la cohorte 1 y 5 en la cohorte 2 ( $p=0,19$ ). El resto de pacientes que no recibieron tratamiento, presentaron un aclaramiento espontáneo del virus. Ninguno de los pacientes estaba diagnosticado de hepatopatía crónica por ecografía.

También se recogió el número de pacientes con antecedentes de infección por sífilis, dos pacientes en la cohorte 1 y tres en la cohorte 2 ( $p=1$ ), todos fueron tratados adecuadamente. En relación con el estado serológico de la toxoplasmosis, seis pacientes tenían una IgG positiva en la cohorte 1 y ocho en la cohorte 2 ( $p=0,74$ ). Respecto al CMV, se objetivó una IgG positiva en seis casos en la cohorte 1 y en la cohorte 2 el número ascendió a once pacientes ( $p=0,17$ ).

La enfermedad tuberculosa había sido diagnosticada en un paciente de la cohorte 1 y en siete pacientes de la cohorte 2 ( $p=0,047$ ). En cuanto a la prueba de la tuberculina (PPD), constaba como realizado en la historia clínica en 13 pacientes de la cohorte 1 y en 10 pacientes de la cohorte 2 ( $p=0,26$ ). El resultado de este test fue positivo en 1 paciente de cada una de las cohortes.

Se actualizó la situación clínica de los pacientes incluidos en el estudio en septiembre de 2021, y se identificó una muerte en la cohorte 1 (debida a un hepatocarcinoma de aparición posterior a la extracción de las muestras) y otra en la cohorte 2 debido a un cáncer de pene metastásico, recidiva de un diagnóstico previo ( $p=1$ ); se identificó también 1 evento no sida en cada una de ellas (cohorte 1: tromboembolismo pulmonar; cohorte 2: úlcera gástrica que precisó cirugía) ( $p=1$ ).

### 10.3 Variables clínicas relacionadas con la historia de la infección por el VIH

La transmisión del VIH ocurrió en 12 pacientes por transmisión UDVP, 8 en la cohorte 1 y 4 en la cohorte 2; la transmisión fue por vía sexual en 20 pacientes: 8 en la cohorte 1 y 12 en la cohorte 2; el contagio ocurrió por transfusión sanguínea en 1 caso de la cohorte 2 ( $p=0,21$ ). Los pacientes de la cohorte 1 fueron diagnosticados entre 1990 y 2013, con un tiempo medio de evolución de la enfermedad desde el diagnóstico hasta la selección de 16,82 años (SD 8,79); los pacientes de la cohorte 2 fueron diagnosticados entre 1987 y 2005, y el tiempo medio de evolución fue de 19,08 años (SD 7,59). No existieron diferencias entre el tiempo de evolución de las dos cohortes ( $p=0,42$ ).

La carga viral al diagnóstico constaba en la historia de 10 pacientes de la cohorte 1 y tuvo una media de 354685,75 copias/mL (SD 319974,52), y en cuatro pacientes de la cohorte 2: 288666,67 copias/mL (SD 318430,32). No existían diferencias entre los grupos comparados ( $p=0,70$ ). Se disponía del número de CD4 al diagnóstico en tan solo 21 pacientes, con una media de 111,58 células/ $\mu$ L en la cohorte 1, y de 78 células/ $\mu$ L en la cohorte 2 ( $p=0,22$ ). Al igual que el parámetro anterior, sólo se dispuso de datos sobre la ratio CD4/CD8 al diagnóstico en 21 pacientes, y al comparar las cohortes, no se encontraron diferencias ( $p=0,40$ ). En cuanto al nadir de CD4 fue de 54,81 (SD 59,70) en la cohorte 1 y 73,65 (SD 51,83) en la cohorte 2, sin diferencias significativas ( $p=0,30$ ). Tabla 9.

TABLA 9. CV, CD4 Y RATIO CD4/CD8 AL DIAGNÓSTICO Y NADIR DE CD4. MEDIA  $\pm$  SD.

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	$p$
CV diagnóstico (copias/mL)	354685,75 (319974,524)	288666,67 (318430,32)	0,70
CD4 diagnóstico (cels/ $\mu$ L)	111,58 (190,77)	78 (44,05)	0,22
Nadir CD4 (cels/ $\mu$ L)	54,8 (59,80)	73,65 (51,84)	0,30
RatioCD4/CD8 diagnóstico	0,25 (0,35)	0,10 (0,12)	0,40

Los pacientes de la cohorte 1 habían sido diagnosticados de VIH una media de 16,82 (SD 8,79) años antes y de 19,08 (SD 7,59) los de la cohorte 2. Entre ambas cohortes no existieron diferencias significativas ( $p=0,42$ ). El tiempo de CV suprimida fue de 6,42 (SD 2,69) en la cohorte 1 y de 12,16 años (SD 3,56) en la cohorte 2, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p<0,001$ ). La media tiempo desde el inicio del TAR fue de 15,07 (SD 7,745) en la cohorte 1 y de 17,94 años (SD 6,41) en la cohorte 2 ( $p=0,22$ ). Sin embargo, la media de tiempo de TAR ininterrumpido fue de 6,95 (SD 4,50) en la cohorte 1, y de 14,76 (SD 5,88) en la cohorte 2, y también alcanzó la significación estadística ( $p<0,001$ ). En el momento de la selección de pacientes y extracción de muestras, los pacientes de la cohorte 1 llevaban una media de 5,80 (SD 3,72) años con el mismo esquema de TAR. En el caso de la cohorte 2, la media fue de 5,58 (SD 3,34) ( $p=0,80$ ). En ningún caso se inició TAR de manera precoz. Los pacientes de la cohorte 1 recibieron de media un total de 7,94 (SD 3,623) esquemas de tratamiento a lo largo de la evolución de su enfermedad. En el caso de la cohorte 2, la media de tratamientos totales fue de 10,35 (SD 4,24). No se identificaron diferencias entre el número de esquemas totales ( $p=0,08$ ) (Figura 12), ni tampoco hubo diferencias entre el número de esquemas recibidos por fracaso de los anteriores ( $p=0,18$ ). Tampoco encontramos diferencias entre ambas cohortes respecto a los grupos terapéuticos de TAR recibido en el momento de extracción de las muestras, o los que recibieron previamente. Todos los pacientes tuvieron una adherencia adecuada según sus cifras de CV y los registros de farmacia hospitalaria al menos en los dos años anteriores al estudio. Sin embargo, once pacientes en la cohorte 1 y cinco de la cohorte 2, habían presentado problemas de adherencia en el pasado. En seis pacientes de la cohorte 1 y en ocho pacientes de la cohorte 2 se identificaron resistencias genotípicas durante el seguimiento ( $p=0,50$ ).

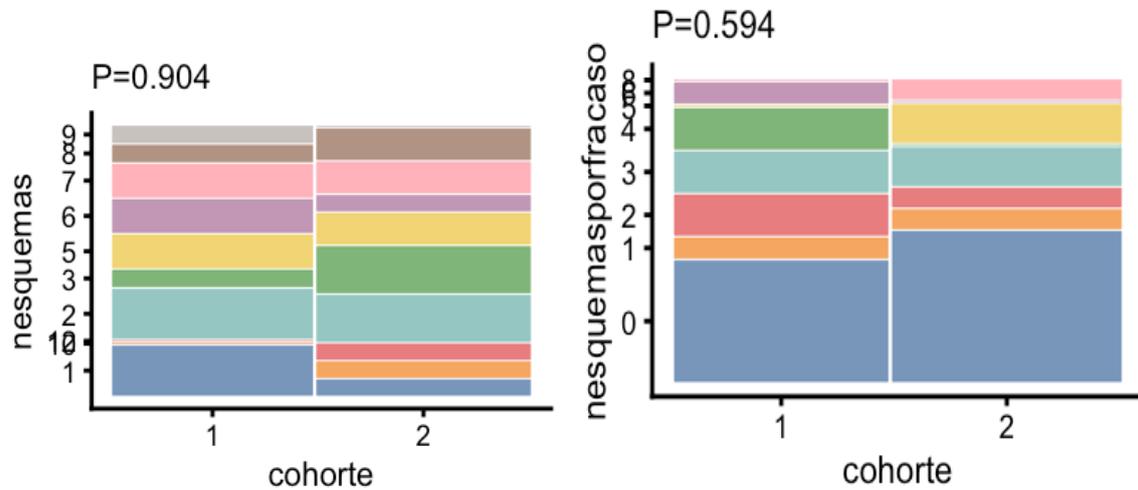
TABLA 10. GRUPOS DE FÁRMACOS RECIBIDOS POR LOS PACIENTES DURANTE LA EVOLUCIÓN

Fármacos	CCR5	IF	II	IP	ITIN	ITINN
Cohorte 1	1	0	3	28	58	16
Cohorte 2	1	1	10	39	80	19
Total	2	1	13	67	138	35

TABLA 11. FÁRMACOS RECIBIDOS POR LOS PACIENTES DURANTE LA EVOLUCIÓN

Fármaco	Cohorte 1	Cohorte 2
Abacavir	8	11
Atazanavir	3	7
Darunavir	9	5
Didanosina	5	7
Dolutegravir	0	4
Efavirenz	8	13
Emtricitabina	15	11
Enfuvirtida	0	1
Etravirina	5	1
Indinavir	5	8
Lamivudina	4	14
Lopinavir	7	9
LopinaviR	1	0
Maraviroc	1	1
Nelfinavir	0	3
Nevirapina	3	4
Raltegravir	3	7
Rilpivirina	1	1
Ritonavir	0	1
Saquinavir	2	5
Stavudina	6	9
Tenofovir	10	15
Zalcitabina	0	1
Zidovudina	10	12
Total	106	150

FIGURA 12. NÚMERO DE ESQUEMAS GLOBALES DE TRATAMIENTO POR PACIENTE Y NÚMERO DE TRATAMIENTOS MODIFICADOS POR FRACASO.



Cada color indica un esquema de TAR diferente.

Se realizó una comparación de los grupos terapéuticos recibidos en ambas cohortes durante la evolución de la enfermedad, y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,80$ ).

Se realizó una comparación de los grupos terapéuticos que recibían los pacientes en ambas cohortes en el momento de la extracción de las muestras, y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,22$ ). No se pudo realizar es estadístico Chi2 por no haber suficientes niveles en la comparación entre los grupos de tratamiento con MRV y los IF. En cuanto a la comparación entre los II, no se encontraron diferencias ( $p=0,41$ ), los IP ( $p=0,11$ ), los ITIN ( $p=0,68$ ) ni en el caso de los ITINN ( $p=0,18$ ).

TABLA 12. GRUPOS DE FÁRMACOS RECIBIDOS EN EL MOMENTO DE LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS.

Fármacos	CCR5	II	IP	ITIN	ITINN
Cohorte 1	1	2	11	14	8
Cohorte 2	1	9	8	16	5
Total	2	11	19	30	12

TABLA 13. ESQUEMAS ACTUALES DE TRATAMIENTO

Esquema terapéutico	Cohorte 1	Cohorte 2
DRV/r+FTC/TDF	1	
DRV/r+ABC/3TC	3	1
DRV/r+3TC+ETR	1	
DRV/r+RAL+ETR	1	
DRV/r+RAL+3TC		1
DRV/r+RAL+TDF		1
DRV/r+RAL		1
DRV/r+MRV+ETR	1	
DRV/r+ETR+AZT	1	
ATZ/r+ABC/3TC		1
ATZ/r+3TC+TDF		1
LOP/r+ FTC/TDF	2	
LOP/r+ FTC/TDF/d4T	1	
LOP/r+ABC/3TC		1
LOP/r+RAL+MRV+ABC/3TC		1
RAL+ FTC/TDF	1	1
DTG+FTC/TDF		1
DTG+ABC/3TC		3
EFV/FTC/TDF	2	2
EFV+ABC/3TC		2
EFV+AZT/3TC	1	
RPV/FTC/TDF	1	

## 10.4 Variables analíticas

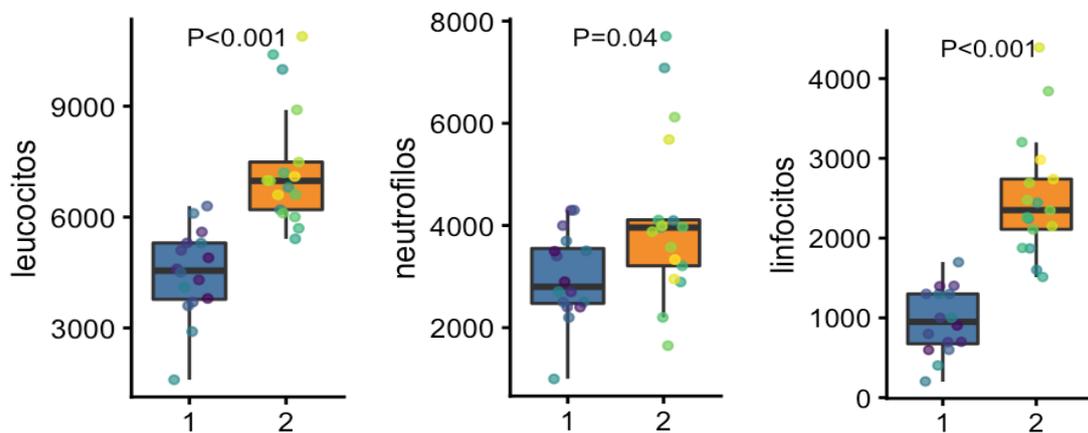
### 10.4.1 Hemograma

Tras el análisis del hemograma, se encontraron diferencias significativas en el número absoluto de leucocitos ( $p<0,001$ ), neutrófilos ( $p=0,04$ ), linfocitos ( $p<0,001$ ) y basófilos ( $p<0,001$ ). No hubo diferencias en las cifras de hemoglobina ( $p=0,07$ ), monocitos ( $p=0,06$ ), eosinófilos ( $p=0,99$ ) y plaquetas ( $p=0,07$ ). Tabla 14 y figura 13.

TABLA 14. HEMOGRAMA. MEDIA  $\pm$  DS

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
Leucocitos/ $\mu$ L	4481,25 (1208,98)	7375,29 (1662,09)	<b>0,001</b>
Neutr3filos/ $\mu$ L	3000 (878,64)	4141,18 (1630,57)	<b>0,04</b>
Linfocitos/ $\mu$ L	956,25 (416,28)	2513,53 (757,31)	<b>0,001</b>
Monocitos/ $\mu$ L	362,50 (125,83)	482,35 (205,81)	0,06
Eosin3filos/ $\mu$ L	150,00 (115,47)	142,94 (67,06)	0,99
Bas3filos/ $\mu$ L	12,50 (34,16)	95,29 (37,10)	<b>0,001</b>
Hemoglobina mg/dL	13,96 (2,21)	15,14 (0,93)	0,07
Plaquetas / $\mu$ L	157,69 (62,32)	195,77 (60,14)	0,07

FIGURA 13. LEUCOCITOS, NEUTR3FILOS Y LINFOCITOS.



Azul: cohorte 1; naranja: cohorte 2.

#### 10.4.2. Parámetros inmunológicos

##### 10.4.2.1. Determinación de inmunoglobulinas A, M y G, y subclases de inmunoglobulina G.

No se encontraron diferencias en ninguna de las variables (tabla 15).

TABLA 15. CUANTIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS Y SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS IGG. MEDIA  $\pm$  DS

Variable- unidad	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
IgA (mg/dL)	255,19 (160,56)	242,29 (65,72)	0,55
IgM (mg/dL)	114,81 (64,44)	101,47 (51,20)	0,53
IgG (mg/dL)	1235,56 (456,22)	1077,94 (250,78)	0,23
IgG1 (mg/dL)	889,75 (369,78)	845,82 (184,01)	0,73
IgG2 (mg/dL)	221,52 (112,29)	245,53 (114,89)	0,61
IgG3 (mg/dL)	59,19 (34,56)	45,11 (20,22)	0,30
IgG4 (mg/dL)	33,79 (24,09)	42 (23,09)	0,31

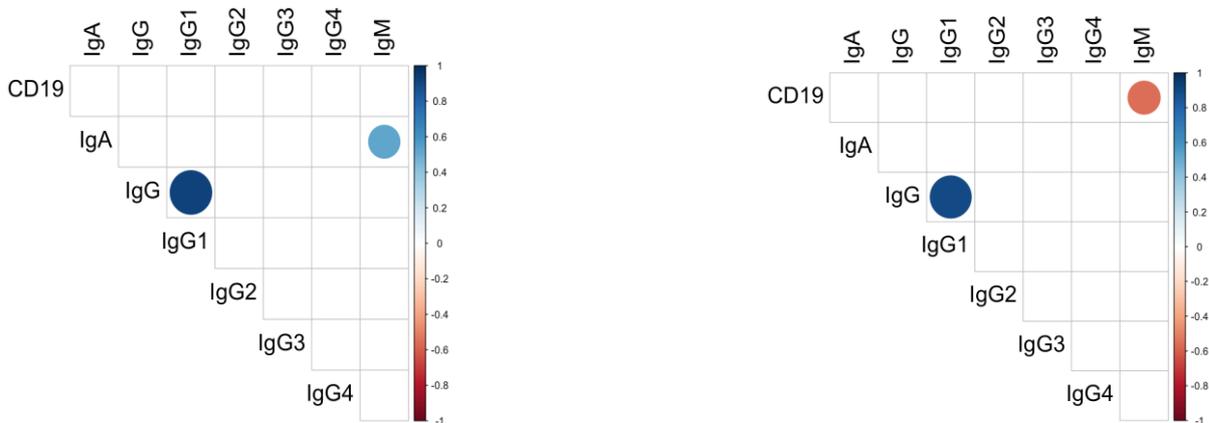
##### 10.4.2.2. Cuantificación de poblaciones linfocitarias.

Se identificaron diferencias significativas en todas las poblaciones de linfocitos T, B y NK, así como entre las diferentes subpoblaciones de linfocitos T analizadas (CD3+CD8+, CD3+CD4+). El porcentaje de pacientes en la cohorte 1 que alcanzó una ratio CD4/CD8 mayor o igual a 1 es de 18,75% y del 41,18% en la cohorte 2 (tabla 16). Se representa también en la figura 14 la correlación en la cohorte 1 entre linfocitos B e inmunoglobulinas, siendo significativa la establecida entre IgG e IgG1, así como entre los valores de IgA e IgM. Por otro lado, también en la figura 14 se representa la misma correlación en la cohorte 2, encontrando correlación negativa significativa entre IgG e IgG1, y los linfocitos B y los valores de IgM.

TABLA 16. SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS Y RATIO CD4/CD8. MEDIA  $\pm$  DS

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	$p$
CD3+ (cels/ $\mu$ L)	618,53 (257,86)	1599,81 (468,26)	<b>0,001</b>
CD3+CD8+ (cels/ $\mu$ L)	408,06 (242,27)	828,46 (335,41)	<b>0,001</b>
CD3+CD4+ (cels/ $\mu$ L)	188,37 (46,11)	757,45 (244,30)	<b>0,001</b>
CD3+CD4+ CD8+ (cels/ $\mu$ L)	5,58 (4,90)	19,47 (13,92)	<b>0,001</b>
CD3-CD16/CD56+ (cels/ $\mu$ L)	164,76 (122,99)	368,70 (197,35)	<b>0,001</b>
CD19+ (cels/ $\mu$ L)	133,42 (70,74)	249,39 (189,51)	<b>0,03</b>
Ratio CD4/CD8	0,61 (0,36)	1,05 (0,50)	<b>0,002</b>

FIGURA 14. CORRELACIÓN ENTRE LOS VALORES DE INMUNOGLOBULINAS EN LA COHORTE 1 Y 2 RESPECTIVAMENTE, Y LOS VALORES ABSOLUTOS DE LINFOCITOS B.



#### 10.4.2.2.1. ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE CÉLULAS T VÍRGENES (CD3 CD4 CD45 RA+) Y MEMORIA (CD3 CD4 CD45 RO+).

No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de células vírgenes y de memoria de los CD4 y CD8, pero sí al comparar las dos cohortes en valores absolutos (tabla 17).

TABLA 17. LINFOCITOS T VÍRGENES Y MEMORIA EN % Y VALORES ABSOLUTOS. MEDIA  $\pm$  DS

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	$p$
CD4 memoria (%)	64,34 (14,79)	62,10 (15,97)	0,71
CD4 vírgenes (%)	26,13 (11,47)	30,76 (13,51)	0,41
CD4 memoria (cels/ $\mu$ L)	119,87 (37,91)	471,59 (195,96)	<b>0,001</b>
CD4 vírgenes (cels/ $\mu$ L)	49,8 (25,15)	230,77 (131,81)	<b>0,001</b>
CD8 memoria (%)	43,16 (18,50)	53,24 (10,96)	0,10
CD8 vírgenes (%)	45,27 (17,53)	38,99 (11,75)	0,98
CD8 memoria (cels/ $\mu$ L)	163,07 (73,80)	443,88 (211,29)	<b>0,001</b>
CD8 vírgenes (cels/ $\mu$ L)	210,07 (180,95)	320,118 (171,00)	<b>0,03</b>

#### 10.4.2.2.2. ANÁLISIS DEL RECEPTOR DE LINFOCITO T (TCR CD3: TCR ALFA-BETA, TCR GAMMA-DELTA).

Se encontraron diferencias en el TCR alfa-beta entre las dos cohortes ( $p=0,002$ ), con un porcentaje mayor en la cohorte 1, no así en el TCR gamma-delta ( $p=0,27$ ). Tabla 18.

TABLA 18. PROPORCIÓN DE TCR ALFA-BETA, TCR GAMMA-DELTA. MEDIA  $\pm$  DS.

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	$p$
TCR alfa-beta (%)	92,68 (5,04)	81,64 (6,45)	<b>0,002</b>
TCR gamma-delta (%)	5,60 (4,68)	2,61 (1,78)	0,27

#### 10.4.2.2.3. ANÁLISIS DE LA ACTIVACIÓN DE LINFOCITOS T.

El grado de activación de los linfocitos T CD4 y CD8 se evaluó utilizando un marcaje simultáneo con 3 marcadores diferentes de activación. Se consideraron a los linfocitos activados cuando expresaban simultáneamente al menos dos de los tres marcadores de activación seleccionados (CD25, HLA DR, CD69). Se encontraron diferencias entre ambas cohortes en la proporción de CD4 que coexpresaban DR y CD25, así como los que expresaban CD69 y DR (Tabla 19). No se encontraron diferencias entre las dos cohortes en la proporción de linfocitos CD8 activados.

TABLA 19. ACTIVACIÓN DE LINFOCITOS CD4. MEDIA  $\pm$  DS

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
CD4 activación doble global (%)	0,82 (0,44)	0,17 (0,13)	<b>0,001</b>
CD4+CD69+DR+ (%)	0,225 (0,289)	0,04 (0,06)	<b>0,002</b>
CD4+CD69 +CD25+ (%)	0,125 (0,13)	0,04 (0,05)	0,07
CD4+ DR+ CD25+ (%)	0,47 (0,23)	0,09 (0,07)	<b>0,001</b>
CD4+CD69+DR+CD25+(%)Triple +	0	0	-

#### 10.4.2.2.4. CUANTIFICACIÓN DE POBLACIONES FUNCIONALES DE LINFOCITOS T CD4+ (TH1, TH2, TH17, TH22, TREG).

No se encontraron diferencias en las diferentes poblaciones funcionales T helper, pero sí en las células Treg ( $p=0,007$ ). Tabla 20.

TABLA 20. POBLACIONES T HELPER. MEDIA  $\pm$  SD

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
Th1 (cels/ $\mu$ L)	45,66 (13,60)	40,36 (12,48)	0,17
Th2 (cels/ $\mu$ L)	78,31 (93,66)	57,87 (13,42)	0,66
Th17 (cels/ $\mu$ L)	88,66 (4,256)	87,82 (3,04)	0,38
Th22 (cels/ $\mu$ L)	16,48 (20,37)	12,17 (3,05)	0,66
Treg (cels/ $\mu$ L)	0,61 (0,39)	0,26 (0,26)	<b>0,007</b>

#### 10.4.2.2.5. ANÁLISIS DE LINFOCITOS T EMIGRANTES RECIENTES DEL TIMO (RTE): CD3 + CD31+ CD45 RA+.

No se encontraron diferencias entre las dos cohortes en los RTE (tabla 21).

TABLA 21. RTE. MEDIA  $\pm$  DS

Variable-unidad	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
RTE (cels/ $\mu$ L)	27,96 (11,39)	25,63 (8,04)	0,76

#### 10.4.2.2.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE LAS CÉLULAS NK BASALMENTE Y ACTIVADAS CON IL-2.

El estudio se realizó co-cultivando durante 3 horas linfocitos de sangre periférica purificados mediante gradiente de Ficoll (PBL) con células K562, ajustando cuantitativamente las condiciones del ensayo a relaciones crecientes de células efectoras (PBL) - diana (K562) de 12,5:1, 25:1 y 50:1, con objeto de estimar la linealidad del ensayo (tabla 22 y 26). Con objeto de evaluar aún más a fondo la funcionalidad de las células NK, se realizaron dos aproximaciones diferentes: cocultivos de PBL sin/con adicción de IL-2. En las figuras se representa la citotoxicidad NK a diferentes concentraciones en un paciente de la cohorte 1 (Figuras 15-17) y en un paciente de la cohorte 2 (Figura 18).

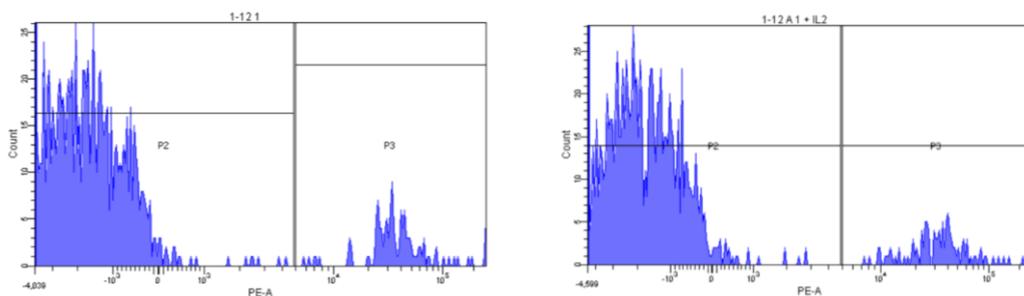
TABLA 22. CITOTOXICIDAD NK (%) CON/SIN ADICCIÓN DE IL-2. MEDIA  $\pm$  DS

Proporción NK	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
NK 12:1	5,78 (4,61)	23,11 (18,71)	<b>0,001</b>
NK 12:1+IL-2	12,49 (13,01)	47,14 (19,15)	<b>0,001</b>
NK 25:1	7,67 (6,83)	30,82 (20,02)	<b>0,001</b>
NK 50:1	12,24 (7,42)	38,70 (19,96)	<b>0,001</b>
NK 50:1+IL-2	30,48 (18,86)	65,76 (13,19)	<b>0,001</b>

TABLA 23. CITOTOXICIDAD NK (CÉLULAS/ML) CON/SIN ADICCIÓN DE IL-2. MEDIA  $\pm$  DS

Células/ $\mu$ L	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
NK 12:1	10,52 (13,05)	84,24 (76,11)	<b>0,001</b>
NK 12:1+IL-2	25,13 (36,94)	180,12 (139,63)	<b>0,001</b>
NK 25:1	15,13 (20,94)	114,82 (96,85)	<b>0,001</b>
NK 50:1	25,25 (28,54)	143,25 (117,97)	<b>0,001</b>
NK 50:1+IL-2	62,00 (67,35)	244,94 (154,03)	<b>0,001</b>

FIGURA 15. CITOTOXICIDAD NK CON LA PROPORCIÓN 12,5:1 (A) Y CON ESA MISMA PROPORCIÓN TRAS AÑADIR IL-2 (B), PACIENTE CON RESPUESTA NULA DE LA COHORTE 1.



A

B

FIGURA 16. CITOTOXICIDAD NK CON LA PROPORCIÓN 25:1, PACIENTE CON RESPUESTA NULA DE LA COHORTE 1.

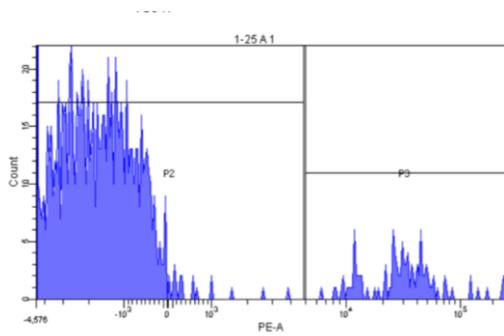
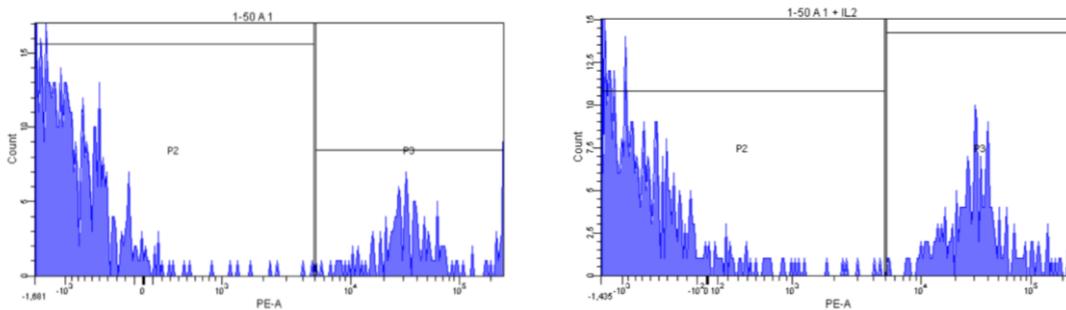


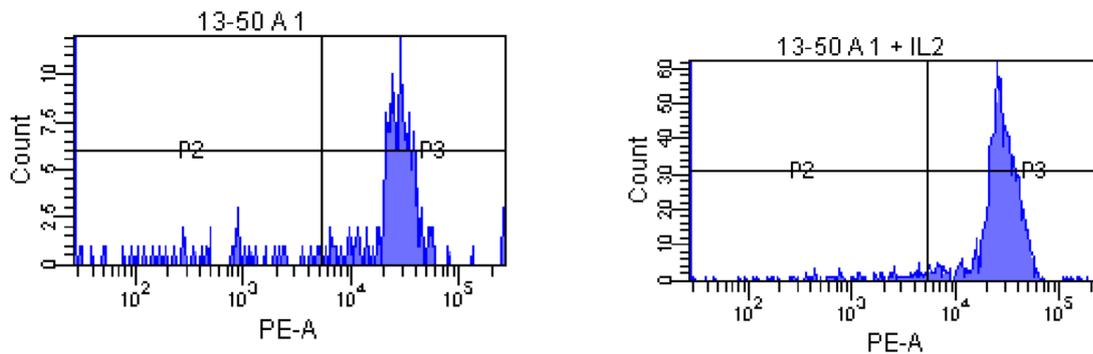
FIGURA 17. CITOTOXICIDAD NK CON LA PROPORCIÓN 50:1 (A) Y CON ESA MISMA PROPORCIÓN TRAS AÑADIR IL-2 (B), PACIENTE CON RESPUESTA NULA DE LA COHORTE 1.



A

B

FIGURA 18. CITOTOXICIDAD NK CON LA PROPORCIÓN 50:1 (A) Y CON ESA MISMA PROPORCIÓN TRAS AÑADIR IL-2 (B), PACIENTE CON RESPUESTA COMPLETA DE LA COHORTE 2.



A

B

Para una mejor interpretación de los resultados, sobre la base de los rangos de referencia en población sana según el fabricante, y de la experiencia del laboratorio de Inmunología (observador experto) en pacientes sanos y en pacientes afectados de diferentes patologías, se predefinieron tres posibles patrones de respuesta en cada uno de los pacientes estudiados: 1. Respuesta adecuada (similar a la población normal: >80% de actividad esperada), 2. Disminución moderada de la respuesta (reducción parcial de citotoxicidad, 30-80% de los valores esperados en población normal) y 3. disminución severa de la respuesta (<30% de los valores esperados en la población normal). Por una parte, un observador experto categorizó los resultados cuantitativos obtenidos en: respuesta adecuada, parcial o severamente disminuida. Para controlar una posible subjetividad del observador experto en la categorización de la citotoxicidad, se reprodujo este experimento mediante una simulación estadística, obteniéndose unos resultados similares a los que obtuvo el observador experto (datos no mostrados). El análisis así realizado mostró:

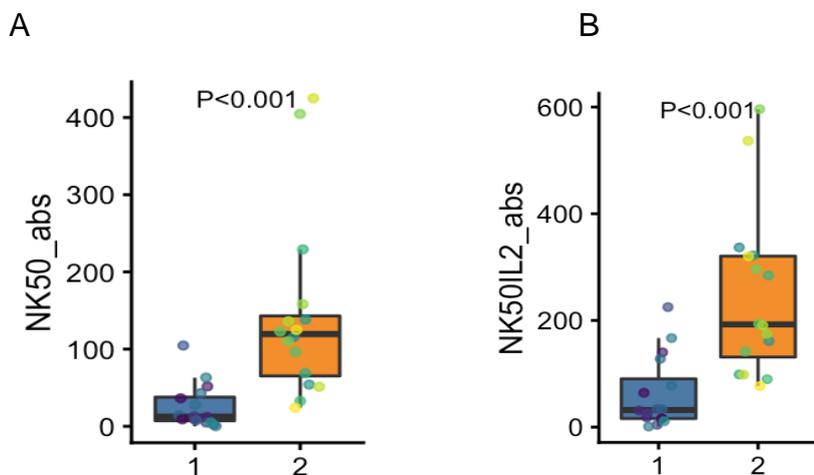
A) Citotoxicidad basal:

En la cohorte 1 respondieron de manera adecuada cinco pacientes, cuatro lo hicieron parcialmente y siete presentaron una disminución severa de la respuesta. En la cohorte 2 respondieron de manera completa 16 pacientes, y uno lo hizo de manera parcial ( $p < 0,001$ ). Tablas 22-24 y figuras 15-18.

B) Citotoxicidad añadiendo IL-2 al ensayo:

Tras añadir IL-2 a las células efectoras (sólo a las relaciones 12,5:1 y 50:1), en la cohorte 1 respondieron de manera adecuada ocho pacientes, tres lo hicieron parcialmente y cinco continuaron presentando una respuesta severamente disminuida. En la cohorte 2 respondieron de manera completa los 17 pacientes ( $p = 0,001$ ). Estos resultados sugieren que la adicción de la IL-2 solo fue capaz de restaurar parcial o totalmente la citotoxicidad NK en 3 de 11 pacientes de la cohorte 1. Tablas 23-24 y figura 19.

FIGURA 19. CITOTOXICIDAD NK CON LA PROPORCIÓN 50:1 (A) Y CON ÉSTA PROPORCIÓN TRAS AÑADIR IL-2 (B).



Azul: cohorte 1; naranja: cohorte 2.

TABLA 24. EFECTO DE IL-2 A LA CITOTOXICIDAD NK

Cohorte	Adecuada	Parcial	Nula	<i>p</i>
1	5	4	7	<b>0,001</b>
2	16	1	0	
1+IL-2	8	3	5	<b>0,001</b>
2+IL-2	17	0	0	

C) Puesto que se había observado que los pacientes de la cohorte 1 tenían un menor número absoluto de linfocitos NK que los de la cohorte 2, valoramos si la disminución de la citotoxicidad observada podía ser debida a que los PBL de esa cohorte contenían una menor cantidad de linfocitos NK.

Sobre la relación entre el número total de linfocitos NK y que la citotoxicidad fuese normal, parcialmente disminuida o severamente disminuida, se realizó:

- Análisis de la varianza (F): el número de linfocitos NK de cada grupo determinó el grado de citotoxicidad NK ( $p=0,012$ ). Tabla 25.

- b. Análisis múltiple: ese efecto es significativo tanto en aquellos pacientes con disminución parcial de la respuesta como en los que mostraron una disminución severa de la citotoxicidad ( $p=0,02$ ). Tabla 26.
- c. Este efecto se observó en los pacientes de la cohorte 1, pero no en los de la cohorte 2 ( $p=0,31$ ).

Sobre la relación entre el número total de linfocitos NK y la capacidad de IL-2 para restaurar la citotoxicidad NK, se observó que al añadir IL-2 al cocultivo no fue capaz de restaurar la citotoxicidad disminuida en los pacientes de la cohorte 1. Tabla 27.

TABLA 25. COHORTE 1. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO ABSOLUTO DE CÉLULAS NK Y LA CITOTOXICIDAD NK. MEDIA  $\pm$  DS

Respuesta	Media	$p$ ANOVA ( $F$ )
Adecuada	288,60 (144,53)	<b>0,012</b>
Parcial	105,11 (63,83)	
Nula	110,39 (57,02)	

TABLA 26. COHORTE 1. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO ABSOLUTO DE CÉLULAS NK Y LA CITOTOXICIDAD NK, COMPARACIÓN MÚLTIPLE. MEDIA  $\pm$  DS

Comparación	Estimación	$p$
Parcial-adeuada	183,49	<b>0,031</b>
Nula-adeuada	178,21	<b>0,017</b>
Nula-parcial	5,28	0,99

TABLA 27. COHORTE 1. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO ABSOLUTO DE CÉLULAS NK Y LA CITOTOXICIDAD NK, TRAS AÑADIR IL-2. COMPARACIÓN MÚLTIPLE. MEDIA  $\pm$  DS

Comparación	Estimación	$p$
Parcial-adeuada	100,00	0,40
Nula-adeuada	141,87	0,10
Nula-parcial	-41,88	0,86

En el modelo lineal, las concentraciones crecientes de células NK se relacionaron con el nadir de CD4, la adherencia al tratamiento, el número de tratamiento recibidos y el tiempo de CV suprimida ( $p < 0,05$ ).

#### 10.4.2.2.7. FAGOCITOSIS DE GRANULOCITOS Y MONOCITOS.

No observamos diferencias significativas entre las 2 cohortes en el porcentaje de neutrófilos con capacidad fagocítica ( $p=0,44$ ), ni en el número de bacterias fagocitadas por neutrófilos (índice de fagocitosis) ( $p=0,63$ ). Tablas 28-29 y figura 20.

Por el contrario, el porcentaje de monocitos con capacidad fagocítica de la cohorte 1 fue significativamente mayor que el de la cohorte 2 ( $p=0,02$ ). Tabla 28 y figura 21.

TABLA 28. FAGOCITOSIS EN GRANULOCITOS Y MONOCITOS. MEDIA  $\pm$  SD

Variable	Cohorte 1	Cohorte 2	$p$
Fagocitosis (a 37°C menos basal a 4°C) en neutrófilos (%)	83,12 (11,65)	84,69 (15,40)	0,44
Fagocitosis (a 37°C menos basal a 4°C) en monocitos (%)	46,62 (14,28)	33,47 (15,60)	<b>0,02</b>

FIGURA 20. FAGOCITOSIS DE NEUTRÓFILOS A 4°C (IZQUIERDA) Y 37°C (DERECHA).

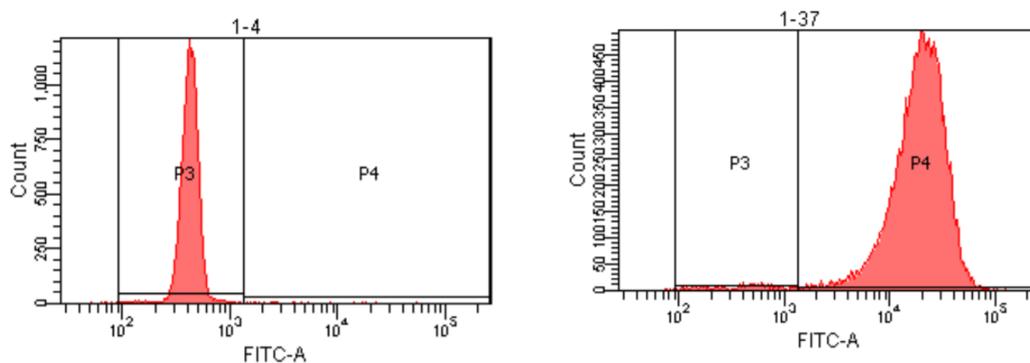
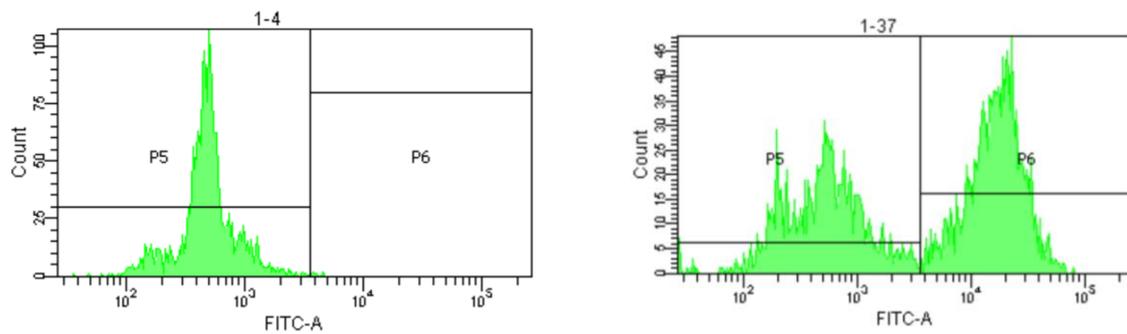


FIGURA 21. FAGOCITOSIS DE MONOCITOS A 4°C (IZQUIERDA) Y 37°C (DERECHA).

TABLA 29. INTENSIDAD DE FLUORESCENCIA (FITC) COMO ÍNDICE DE FAGOCITOSIS EN NEUTRÓFILOS Y MONOCITOS. MEDIA  $\pm$  SD

Variable-unidad	Cohorte 1	Cohorte 2	<i>p</i>
FITC neutrófilos	18025,75 (7068,65)	16305,06 (8049,60)	0,63
FITC monocitos	16456,85 (8591,94)	11463,53 (4108,87)	0,08

#### 10.4.2.2.8. RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.

Se evaluó mediante IGRA en todos los pacientes, en este caso QFT® y PPD.

En la cohorte 1 hubo un solo positivo para IGRA, y tres en la cohorte2 ( $p=0,32$ ).

La lectura del PPD fue positiva en un paciente en cada una de las cohortes ( $p=0,85$ ), habiéndose realizado en el caso de la cohorte 1 en trece pacientes, y en la cohorte 2 en diez.

#### 10.4.3. Parámetros virológicos.

La determinación de la carga viral fue menor de 20 copias/mL en todos los pacientes de las dos cohortes.

#### 10.5. Correlación global entre las diferentes variables analizadas:

En las siguientes gráficas de correlación en las que se emplea el test Spearman, se representan en color las correlaciones estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), en azul las que tuvieron una asociación positiva ( $>0$ ) y en naranja las que tuvieron una asociación negativa ( $<0$ ).

En la figura 22 se representan las variables inmunológicas de manera global.

En la figura 23 se representan las variables inmunológicas relacionadas con los linfocitos CD4+ y CD8+ de manera global.

En la figura 24 se representan las variables inmunológicas relacionadas con los linfocitos CD4+ y CD8+ en la cohorte 1, donde se muestra la relación directa de la proporción de CD8+ vírgenes y los RTE, e inversa de los CD8+ memoria y los RTE.

La figura 25 muestra las variables inmunológicas relacionadas con los linfocitos CD4+ y CD8+ en la cohorte 2.

FIGURA 22. CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS VARIABLES ANALIZADAS SEGÚN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA (TAMAÑO DEL CÍRCULO). CORRELACIÓN POSITIVA (AZUL), CORRELACIÓN NEGATIVA (NARANJA).

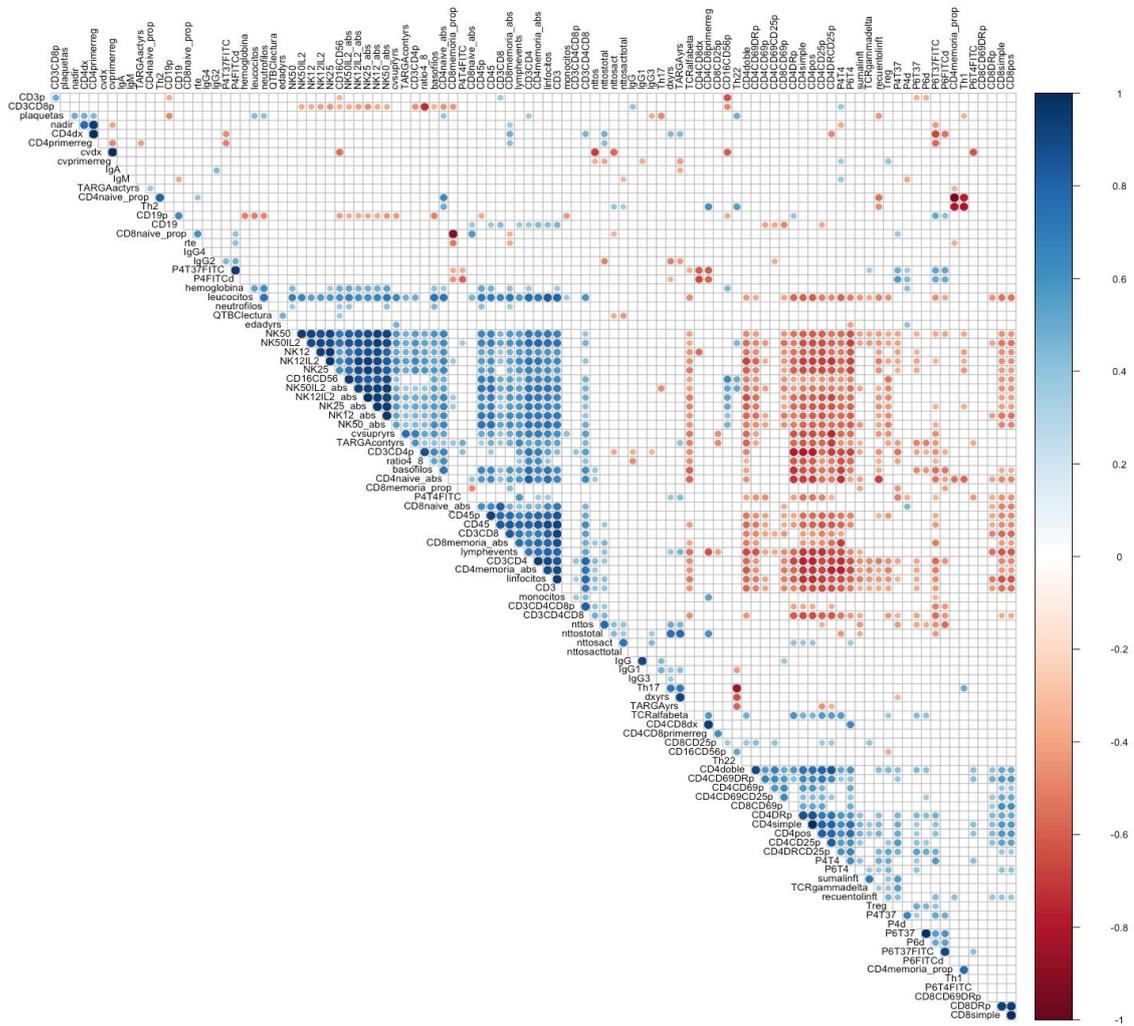




FIGURA 24. COHORTE 1. CORRELACIÓN DE LAS VARIABLES EN BASE A LINFOCITOS T SEGÚN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA (TAMAÑO DEL CÍRCULO). CORRELACIÓN POSITIVA (AZUL), CORRELACIÓN NEGATIVA (NARANJA).

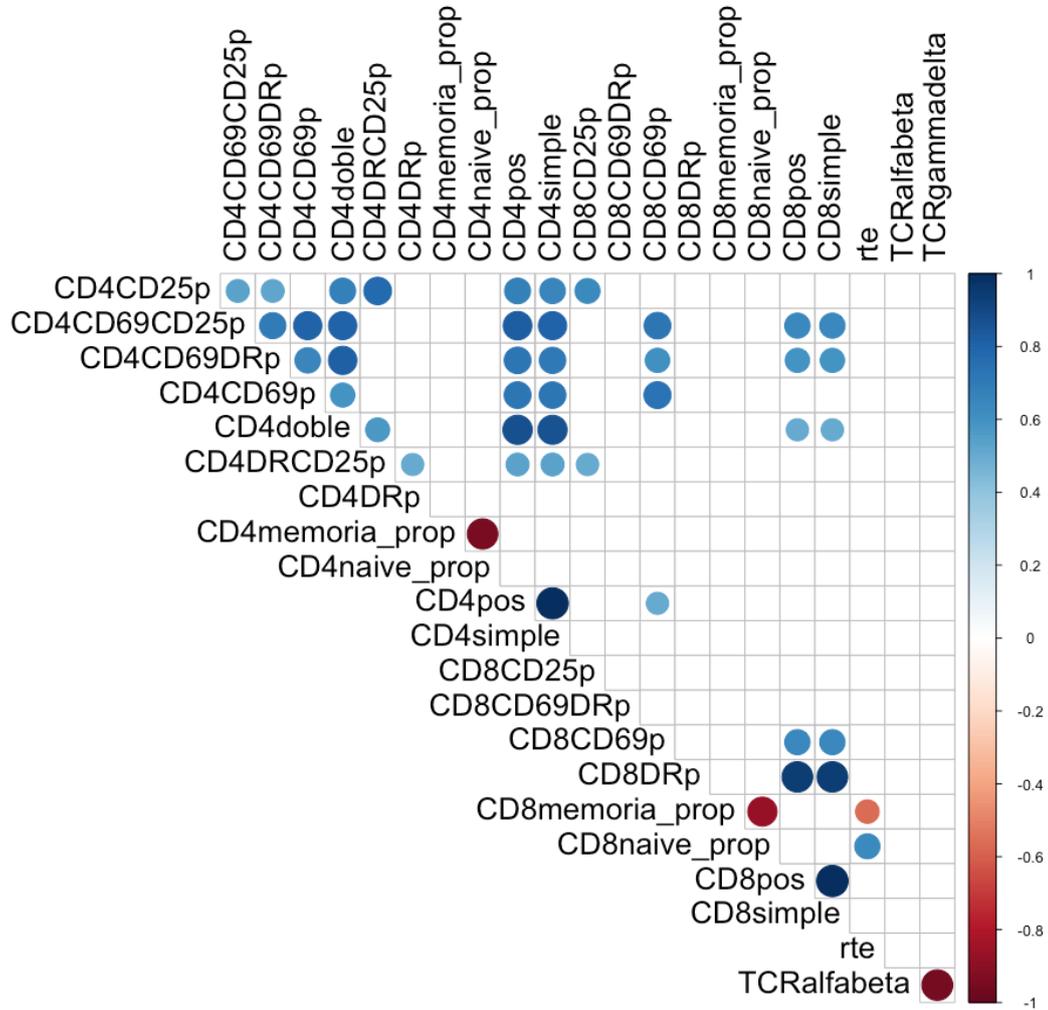
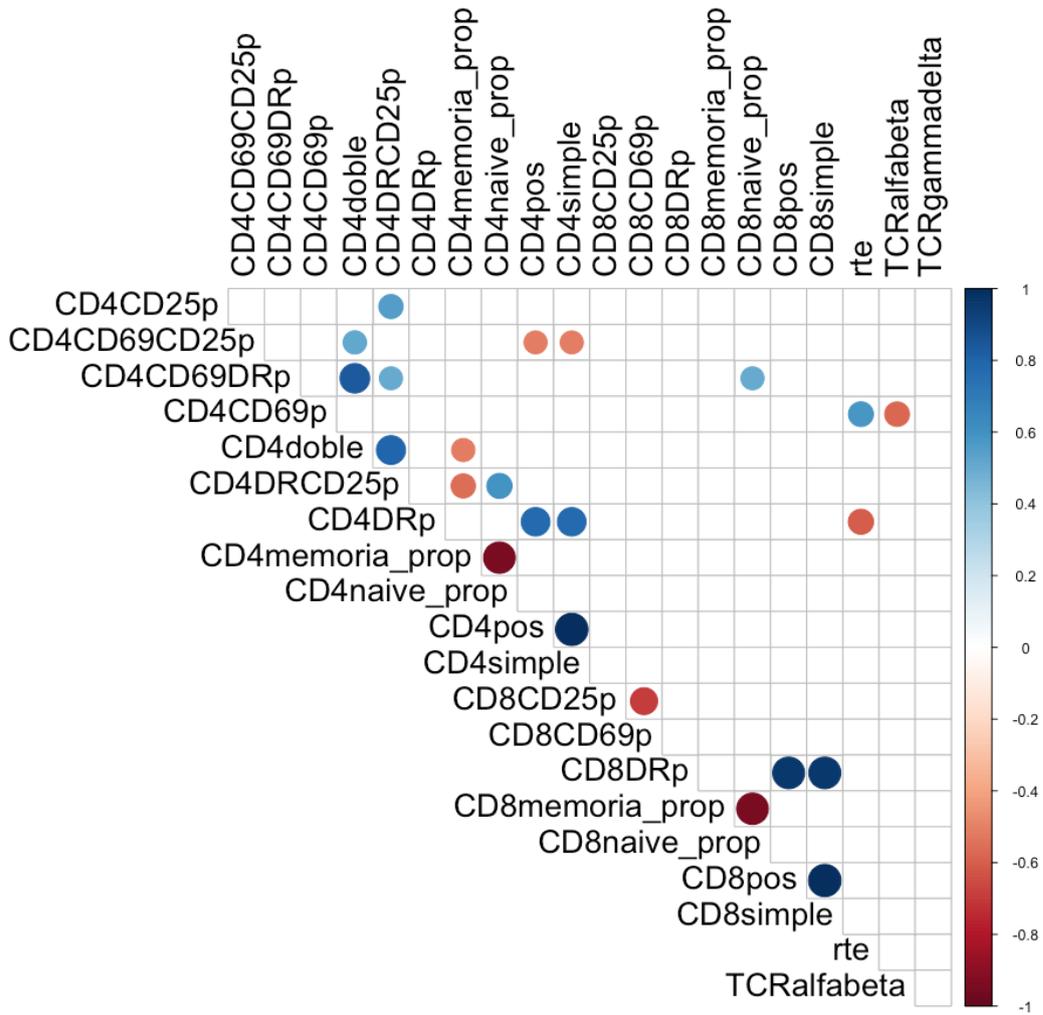


FIGURA 25. COHORTE 2. CORRELACIONES ENTRE LINFOCITOS T SEGÚN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA (TAMAÑO DEL CÍRCULO). CORRELACIÓN POSITIVA (AZUL), CORRELACIÓN NEGATIVA (NARANJA).



## 11. DISCUSIÓN

En este proyecto estudiamos las diferencias desde el punto de vista clínico-epidemiológico e inmunológico entre dos cohortes de pacientes VIH en seguimiento en la provincia de León, con una evolución divergente en sus cifras de linfocitos CD4 tras el inicio del TAR.

Definimos un periodo de al menos dos años de seguimiento con CV indetectable porque es durante este tiempo cuando se produce la mayor recuperación de las cifras de CD4. Sin embargo, en la literatura, las definiciones de RID son diversas en cuanto al número de CD4 y al tiempo de seguimiento tras alcanzar la supresión viral. Algunos autores establecen la RID cuando no se produce un aumento en las cifras de CD4 durante un periodo concreto (tabla 30), y otros establecen un corte determinado por debajo del cual, la respuesta al TAR se considera inadecuada (tabla 31). En el primer caso, el aumento en el número de células varía entre las 50 y 100 CD4/ $\mu$ L y el periodo de seguimiento se establece entre los seis y los 24 meses (Baker, Peng, Rapkin, Krason, Reilly, Cavert, Abrams, Macarthur, *et al.*, 2008; Batista *et al.*, 2015; Dronda *et al.*, 2002; Gilson *et al.*, 2010; Grabar *et al.*, 2000; Gutierrez *et al.*, 2008; Kelly *et al.*, 2016; Moore *et al.*, 2008; Nakanjako *et al.*, 2008; Nicastri *et al.*, 2005; Prabhakar *et al.*, 2011a; Tan *et al.*, 2008; Tuboi *et al.*, 2010). Desde el otro enfoque, los niveles de CD4 se han establecido entre las 100 y las 350 células/ $\mu$ L tras iniciar el TAR y mantener una CV indetectable durante periodos de entre seis y 60 meses (Engsig *et al.*, 2015; Falster *et al.*, 2009; Kaufmann, 2005; Kelly *et al.*, 2016; Loutfy *et al.*, 2010; Negredo *et al.*, 2010; Pacheco *et al.*, 2009; Sauce *et al.*, 2011; Taiwo *et al.*, 2009; Takuva *et al.*, 2014; Zoufaly *et al.*, 2011).

La recuperación de los CD4, aunque mayor durante los primeros meses tras el inicio del TAR, se observa durante varios años tras el control de la CV, pero de una manera mucho menos pronunciada. La recuperación de CD4 puede ser independiente del nadir alcanzado por el paciente, aunque no en términos relativos y se ha establecido como factor pronóstico la cifra de CD4 alcanzada tras 6 meses del inicio del TAR (Podzamczer *et al.*, 2021). En una cohorte española se describió cómo, incluso 6 años después del inicio del tratamiento, sólo el 30% de los pacientes superó los 350 CD4/ $\mu$ L y tan sólo un 12% los 500 CD4/ $\mu$ L (Pacheco *et al.*, 2009). En el caso de la cohorte griega, el aumento de los CD4 se produjo hasta 8 años después de suprimir la CV, pero fueron determinantes los 4 primeros. En este trabajo, tan solo el

24% de los pacientes normalizaron sus cifras de CD4, partiendo de un nadir menor de 200 células/ $\mu$ L (Pantazis *et al.*, 2019). En el caso de nuestra cohorte, tras revisar la situación clínica en septiembre de 2021, seis años después de la obtención de muestras, se observó que el 20% de los pacientes habían superado los 500 CD4/ $\mu$ L, el 40% permanecían con cifras por debajo de 300 CD4/ $\mu$ L, y había otro 40% de pacientes que se mantenían en una zona gris, entre 300 y 500 CD4/ $\mu$ L.

En nuestro trabajo, la incidencia de RID fue del 4,88%, una cifra inferior a la notificada en la mayoría de las grandes series publicadas, donde la incidencia varía entre el 5 y 36%. Excepción a estas cifras son los datos aportados por (Hunt, Cao, *et al.*, 2011) con una incidencia del 2.8%, si bien es cierto que su definición varía y es poco comparable a la de la mayoría de los estudios. Otro caso con una RID baja, del 4.6%, es el publicado por (Gilson *et al.*, 2010), que establece el criterio más restrictivo: menos de 100 células/ $\mu$ L tras 6 meses de tratamiento. En cualquier caso, los datos de incidencia son poco comparables precisamente por la variabilidad en la definición. Otros factores que pueden influir en esta disparidad de datos son la diferencia entre cohortes de pacientes pretratados o vírgenes de TAR, los límites en la detección de la CV, menor cuanto más modernas son las series publicadas, las comorbilidades que tenían los pacientes, o un perfil epidemiológico diferente. Sin dejar de lado que, con el paso de los años, el TAR se ha convertido en un tratamiento más eficaz y mejor tolerado, lo que conlleva una mejor adherencia y, por lo tanto, mejor recuperación.

En nuestro estudio la edad media de los pacientes se acercó a los 58 años en la cohorte 1, y fue muy superior a la edad media registrada en la mayoría de las series. En este caso se trataba de pacientes pretratados y en seguimiento durante un largo periodo de tiempo que alcanzó los 20 años en el caso de la cohorte 1 y los 17 años en la cohorte 2. Aunque el tiempo de CV suprimida fue menor en los pacientes con RID, en las dos cohortes fueron periodos de tiempo más prolongados que los comunicados en otros trabajos, 14 años en la cohorte 1 y nueve años en la cohorte 2. La edad pareció ser un factor relacionado con el número de CD4 alcanzado tras la supresión de la CV en varios trabajos, y entre otros fenómenos, algunos autores lo relacionaron con una menor actividad tímica aunque nosotros no hayamos encontrado diferencias en este aspecto (Kaufmann *et al.*, 2005; Lapadula *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2017; Loutfy *et al.*, 2010; Piketty *et al.*, 2000; Schacker *et al.*, 2005; Teixeira *et al.*, 2001; Torti *et al.*, 2012; Van Lelyveld *et al.*, 2012; Viard *et al.*, 2001).

TABLA 30. ESTUDIOS QUE ESTABLECEN RID POR AUMENTO EN EL NÚMERO DE CD4 RESPECTO AL BASAL

<b>Autor, año</b>	<b>CD4/<math>\mu</math>L</b>	<b>CV copias/mL</b>	<b>Tiempo TAR</b>	<b>% RID</b>
(Grabar <i>et al.</i> , 2000)	< 50	<1000	12 meses	17,3
(Dronda <i>et al.</i> , 2002)	< 100	<50	12 meses	16,5
(Moore <i>et al.</i> , 2005)	< 50	<500	6 meses	22,6
(Nicastri <i>et al.</i> , 2005)	< 100	<500	12 meses	15,7
(Tan <i>et al.</i> , 2008)	<50	Indetectable sin especificar	6 meses	11,4
(Gilson <i>et al.</i> , 2010)	$\leq$ 100	<50	8 meses	4,6
(Tuboi <i>et al.</i> , 2010)	<50	<500	6 meses	19
(Baker <i>et al.</i> , 2008)	<50	<400	8 meses	18
(Gutierrez <i>et al.</i> , 2008)	<50	<500	12 meses	16,6
(Nakanjako <i>et al.</i> , 2008)	<50 (ó<200 totales)	<400	6 meses	-
(Batista <i>et al.</i> , 2015)	<50	<50	6 meses	15,5
(Kelly <i>et al.</i> , 2016)	<100 (ó<350 totales)	Indetectable	6 meses	-
(Prabhakar <i>et al.</i> , 2011a)	<100 células o aumento <50% del basal	< 47 copias.	12 meses	13,59
(Piketty <i>et al.</i> , 1998)	$\leq$ 50	Reducción > 1 $\log^{10}$	15,6	13,5

**Tabla 31. Estudios que establecen RID al alcanzar cifra determinada de CD4**

<b>Autor, año</b>	<b>CD4</b>	<b>CV copias/mL</b>	<b>Tiempo TAR</b>	<b>% RID</b>
(Kaufmann, 2005)	≤500	<1000	60 meses	9,6
(Engsig et al., 2010)	≤200	<50	36 meses	20
(Zoufaly et al., 2011b)	≤200 células	<50	12 meses	-
(Hunt, Cao, et al., 2011)	≤95 células (terciles)	<1000	6 meses	2,8
(Falster et al., 2009)	<350 células	<400	9 meses	28
(Loutfy et al., 2010)	≤200 células	<50	12 meses	19,9
(Kelly et al., 2016)	<100 (ó<350 totales)	Indetectable	6 meses	-
(Pacheco et al., 2009)	<250	<500	22 meses	25,4
(Taiwo et al., 2009)	<200	<50	Mediciones trimestrales	1,7
(Negredo et al., 2010)	<350 células	<50	24 meses	40
(Prabhakar et al., 2011a)	<100 células o aumento <50% del basal	<47	12 meses	13,59
(Piketty et al., 1998)	≤ 50	Reducción > 1 log <sup>10</sup>	15,6	13,5
(Engsig et al., 2010)	<200	<50	36 meses	18,9

En esta cohorte, la proporción de varones fue superior a la de mujeres, similar a lo descrito en otras series. Aunque este dato esté sesgado por el predominio de varones en la cohorte general en seguimiento en la provincia de León, y pudiese estarlo también en el resto de las citas a las que se hace referencia, se describió en algunas como un factor de riesgo (Loutfy *et al.*, 2010; Prabhakar *et al.*, 2011a), ya que en otra serie fue identificado como factor protector (Lee *et al.*, 2017).

En variables epidemiológicas como la etnia o el consumo de tóxicos en el momento de la obtención de muestras, no encontramos diferencias significativas entre las dos cohortes. Sí que fue mayor el consumo de drogas por vía parenteral en el pasado en los pacientes de la cohorte 1, pero sin alcanzar la significación estadística. Sin embargo, el consumo previo de alcohol sí fue significativamente mayor en la cohorte de pacientes con RID. Este hecho podría explicarse porque en un entorno social desfavorable, como es el del consumo perjudicial de alcohol, el diagnóstico podría ser más tardío y la adherencia menor. Estos dos factores tienen un impacto directo sobre el nadir y sobre la recuperación posterior de las cifras de CD4. Se ha descrito que el consumo de tóxicos como el alcohol, contribuyen al aumento de marcadores de activación, a la translocación bacteriana y a una menor respuesta de las células T (Carrico *et al.*, 2015; Valiathan *et al.*, 2014).

La vía de transmisión parenteral fue mayoritaria en la cohorte 1 y la vía sexual en la cohorte 2. A pesar de que en este trabajo no encontramos diferencias significativas, en la literatura se ha descrito la asociación entre una mayor tasa de RID y el consumo de drogas por vía parenteral (Engsig *et al.*, 2015). Independientemente de que pudiese existir algún fenómeno patogénico relacionado con la RID, de lo que no tenemos constancia, los pacientes adictos a drogas por vía parenteral tuvieron menor adherencia, el diagnóstico fue más tardío, accedieron menos al sistema de salud y en general fueron diagnosticados en la década siguiente a la identificación del virus VIH (Drona *et al.*, 2002; Loutfy *et al.*, 2010; Massanella *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2005; Molina-Pinelo *et al.*, 2005).

La RID es un factor de riesgo para la aparición de eventos tanto sida como no sida, y la evidencia es contundente al respecto (Baker *et al.*, 2008; Baker, Peng, Rapkin, Krason, Reilly, Cavert, Abrams, MacArthur, *et al.*, 2008; Batista *et al.*, 2015; Cenderello y Maria, 2015; Engsig *et al.*, 2010; EuroCoord, 2012b; Falster *et al.*, 2009; Gaardbo *et al.*, 2012; Gilson *et al.*, 2010; Grabar *et al.*, 2000; Lapadula *et al.*, 2013,

2015; May *et al.*, 2014; Moore *et al.*, 2005; Nicastri *et al.*, 2005; Pacheco *et al.*, 2015; Stephen *et al.*, 2009; Zoufaly *et al.*, 2011a):

En nuestra cohorte, no se demostró una tasa mayor de infecciones oportunistas o relacionadas con el VIH, posiblemente por un seguimiento menos prolongado y un tamaño muestral reducido. Tampoco objetivamos diferencias significativas en relación con el antecedente de enfermedad tuberculosa, aunque sí hubo una tendencia mayor, sorprendentemente, en la cohorte 2. Si nos fijamos en las pruebas de screening de infección tuberculosa, como el IGRA, resultó positivo en el pacientes con antecedentes de la cohorte 1, y sin embargo sólo en tres pacientes de los seis que tenían antecedentes en la cohorte 2. Este hecho resulta sorprendente dada la sensibilidad del ensayo y de que la cohort 2 presentaba un mayor número de CD4. Los IGRA reflejan la estimulación por parte del bacilo de la tuberculosis de los linfocitos T memoria específicos de *Mycobacterium tuberculosis*, sobre todo Th1 (pero también CD8), productores de INF- $\gamma$ . En pacientes con alteraciones marcadas de la inmunidad, se ha descrito una anergia en los resultados de este test (Cardona, 2017), sugiriéndose que podrían obtenerse mejores resultados empelando el T-SPOT1 TB test (T-Spot), ya que parece que se ve menos afectado por el recuento de linfocitos CD4 (Ayubi *et al.*, 2016; Cattamanchi *et al.*, 2011; Huo y Peng, 2016; Ramos *et al.*, 2012; Ruan *et al.*, 2016). Se ha notificado cómo la rentabilidad de los test aumenta a medida que lo hacen los valores de CD4, y sobre todo por encima de las 100 células/ $\mu$ L (Parrella *et al.*, 2015). Por este motivo se recomienda realizarlos de nuevo una vez el paciente ha superado los 200 CD4/ $\mu$ L. En el caso de la lectura del PPD, fue positiva sólo en un paciente de cada cohorte. La reactividad de esta prueba está relacionada de manera inversamente proporcional con el número de CD4. Además, se ha descrito discordancia entre los resultados del IGRA y el PPD (Khawcharoenporn *et al.*, 2015; Kussen *et al.*, 2016; Leung *et al.*, 2016; Talati *et al.*, 2009). La recomendación de las guías clínicas vigentes en cuanto a la realización de las pruebas de cribado es la de solicitar el PPD cada dos o tres años y el IGRA en el caso de que el PPD sea negativo y/o el paciente tenga menos de 200 CD4/ $\mu$ L. Sin embargo, en una parte de los pacientes incluidos en este trabajo no se disponía de ese dato. Podría ser que no se hubiese solicitado, o que el resultado no estuviese registrado en la historia clínica, o que se optase directamente por la realización del IGRA ya que gran parte de estos pacientes pertenecen al grupo con CD4 bajos.

La incidencia de neoplasias diagnosticadas durante la evolución fue similar en ambos grupos, aunque otros trabajos, con un seguimiento a largo plazo han demostrado una incidencia mayor (Guiguet *et al.*, 2009; Massanella *et al.*, 2013; Shiels *et al.*, 2010).

Tampoco fue diferente la prevalencia de factores de riesgo o de enfermedad cardiovascular, aunque esto también está descrito en la literatura, y se ha relacionado con el aumento del grosor íntima-media y de una disfunción endotelial (Ho *et al.*, 2012; Ssinabulya *et al.*, 2014).

No encontramos tampoco una mayor prevalencia de enfermedad hepática, renal u ósea en los pacientes con una recuperación inmune discordante, aunque todas estas entidades se hayan descrito con mayor frecuencia en pacientes con una recuperación insuficiente de CD4 (Arnsten *et al.*, 2007; Badano *et al.*, 2019; Choi *et al.*, 2009).

La edad media en los dos grupos fue mayor que en otros trabajos; aun así, se trataba de pacientes jóvenes, el tamaño de la cohorte fue reducida y el tiempo de seguimiento limitado: seis años desde que se seleccionaron los pacientes hasta que reevaluamos la situación clínica de los pacientes. Aunque la esperanza de vida en los pacientes VIH se acerca a la de los pacientes sanos, la evidencia ha reflejado como la mortalidad en los pacientes con RID es mayor en comparación con los que presentan RIA (Baker *et al.*, 2008; Baker *et al.*, 2015; Cenderello y de Maria, 2015; Engsig *et al.*, 2010; EuroCoord, 2012b; Falster *et al.*, 2009; Gaardbo *et al.*, 2012; Gilson *et al.*, 2010; Grabar *et al.*, 2000; Lapadula *et al.*, 2013, 2015; May *et al.*, 2014; Moore *et al.*, 2005; Nicastrì *et al.*, 2005; Pacheco *et al.*, 2015; Zoufaly *et al.*, 2011a).

En general, una crítica que podría hacerse a una gran parte de los trabajos que inciden en estas cuestiones, es que no reflejan el momento en el que se produce la mayor incidencia de eventos y/o muertes, si es en la fase inicial del tratamiento, como es esperable, o tiempo después de conseguida la supresión virológica, cuando el peso de las neoplasias o las enfermedades vasculares sería mayor (Kelly *et al.*, 2016; Zoufaly *et al.*, 2011a).

La coinfección por otros microorganismos, en concreto por algunos virus, se ha identificado como un factor implicado en la RID. En el caso de la infección por VHB, en nuestra cohorte no demostramos diferencias entre ambos grupos, si bien es cierto, que todas fueron infecciones pasadas, con una determinación de AgHBs negativo.

Entre el 15 y el 30% de los pacientes VIH presenta coinfección por el VHC (Massanella *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2005) y varios estudios han relacionado dicha coinfección con la RID (Lapadula *et al.*, 2015; Miller *et al.*, 2005; Tamargo Chamorro, 2010), incluso en pacientes con respuesta al tratamiento antiviral. Una publicación reciente observó una discreta mejoría en la determinación de parámetros inflamatorios en una cohorte de pacientes con respuesta viral sostenida de VHC tras el tratamiento con peginterferón  $\alpha 2a$  y ribavirina, aunque posiblemente menor de la esperada (García-Broncano *et al.*, 2020). En nuestro caso todos los pacientes con antecedentes de infección por VHC habían sido tratados con éxito o aclarado el virus de manera espontánea antes de la extracción de muestras, por lo que no es posible compararlo con series publicadas antes del uso de los antivirales de acción directa. La hepatopatía jugaría un papel en esta circunstancia por el aumento de citoquinas inflamatorias, sobre todo en aquellos con una infección no controlada (Badano *et al.*, 2019).

Los títulos elevados de IgG para CMV se relacionaron con una respuesta discordante (Gómez-Mora *et al.*, 2017), pero en algunos estudios, el simple hecho de ser seropositivos para este microorganismo contribuyó a una menor recuperación de las cifras de CD4 (Goossens *et al.*, 2002; Lichtner *et al.*, 2015). Parece que, independientemente de la infección por VIH, el CMV produce una alteración de la membrana del epitelio intestinal y aumenta la permeabilidad, induciendo la producción de IL-6 y la activación de los linfocitos CD8. Algunos autores realizaron ensayos administrando terapia antiviral con valganciclovir a pacientes con infección activa o latente por CMV, observando tras varias semanas de tratamiento, un descenso en los marcadores de activación linfocitaria y mejoría en otros parámetros como la ratio CD4/CD8 (Hunt *et al.*, 2011; Maidji *et al.*, 2017). A pesar de esto, no se demostró que esta estrategia tuviese repercusión en el número de CD4. Una limitación de estos trabajos fue el corto periodo de seguimiento tras el inicio de la terapia. En nuestro trabajo no demostramos diferencias entre ambas cohortes a este respecto.

El TAR es clave en la recuperación de CD4, por lo que el tiempo de evolución de la enfermedad sin tratamiento contribuirá, como es lógico, a un mayor deterioro del sistema inmune y a una peor recuperación relativa posterior (Ford *et al.*, 2018; Hocqueloux *et al.*, 2013; Jain *et al.*, 2013; Kaufmann *et al.*, 2005; Pantazis *et al.*, 2019). En nuestro trabajo, ningún paciente comenzó TAR de manera precoz (cifras de linfocitos por encima de 500 células/ $\mu$ L). Hay que tener en cuenta también que, a pesar

de haber iniciado TAR años antes, durante un primer tiempo el tratamiento no fue efectivo para suprimir la replicación, debido a efectos adversos o a problemas de adherencia. Y aunque ésta no fue distinta en ambas cohortes, sí tuvo repercusión en la aparición de resistencias en ambos grupos. Esto deja en evidencia que, aunque la supresión de la carga viral es el factor más importante, existen otras circunstancias que condicionan la recuperación del sistema inmune.

Sobre los esquemas y grupos de fármacos, en nuestro trabajo no encontramos diferencias significativas entre ambas cohortes, ni en los esquemas recibidos previamente, ni tampoco en los esquemas que recibían en el momento de la obtención de muestras. Son muchos los trabajos que han intentado relacionar determinados grupos de fármacos, o estos de manera individualizada, con una mejor respuesta inmunológica, aunque se trata, en general, de estudios retrospectivos. Es el caso del AZT (F. Zhang *et al.*, 2015) o la combinación de varios antirretrovirales, como DDI y TDF (Barreiro y Soriano, 2006; Binqet y Chêne, 2001). En contraposición también hay trabajos en los que describen una recuperación menor en pacientes con d4T, AZT o TDF (F. Zhang *et al.*, 2015). También hay referencias a los IP y su papel favorable en la recuperación inmune. El mecanismo mediante el cual este fármaco podría actuar estaría relacionado con la disminución de los fenómenos de apoptosis (Dronda *et al.*, 2002; Renaud *et al.*, 1999; Sloand *et al.*, 1999). El MRV también se ha postulado como un fármaco protector por su capacidad para revertir parcialmente el reservorio, y dispone de varios ensayos clínicos que han obtenido resultados nulos para conseguir un aumento en las cifras de CD4 (López-Huertas *et al.*, 2017; Wilkin *et al.*, 2012), modestos en la normalización de la ratio CD4/CD8 (Serrano-Villar, Caruana, *et al.*, 2017), y con resultados dispares en su impacto favorable sobre la activación de los linfocitos CD8 (Cillo *et al.*, 2015; Lafeuillade *et al.*, 2014; Lévy *et al.*, 2020), o en una mayor expansión (Cillo *et al.*, 2015; López-Huertas *et al.*, 2017; Rusconi *et al.*, 2013). La combinación de MRV y RAL añadido al tratamiento estándar ha fracasado también en este objetivo (Lafeuillade *et al.*, 2014). Por su parte, el RAL ha sido uno de los fármacos más estudiados, principalmente en ensayos clínicos en los que se añadió al esquema TAR previo. Con este fármacos se describió por ejemplo, un aumento más rápido, aunque no mayor en las cifras absolutas de CD4 (Negredo *et al.*, 2013; Serrano-Villar *et al.*, 2017), y en algunos trabajos incluso se ha teorizado sobre su impacto en el reservorio y en la disminución de la activación del compartimento de CD8 (Buzón *et al.*, 2010; Massanella *et al.*, 2012), aunque esto no ha sido confirmado

en todas las publicaciones (Byakwaga *et al.*, 2011; Gandhi *et al.*, 2017; Hatano *et al.*, 2011). Hay que reseñar también que los esquemas terapéuticos que recibían nuestros pacientes en el momento de la selección son en general más antiguos y en un número importante, atípicos, con una alta tasa de IP. Actualmente predomina el uso de los II en doble o triple terapia por sus ventajas sobre tolerabilidad, interacciones, manteniendo una eficacia similar.

La carga viral es clave para obtener una recuperación inmunológica adecuada. La determinación de ésta al diagnóstico, y su relación con la mejoría de las cifras de CD4 ha sido variable en otros trabajos. Los pacientes que presentaron un menor número de copias antes de iniciar TAR, tuvieron una mayor tasa de RID en algunos trabajos. La teoría que plantean estos autores es que los niveles elevados de CV se relacionarían con un mayor secuestro de linfocitos en órganos linfoides, y tras la supresión, se podría recuperar los valores de CD4+ (Florence *et al.*, 2003; Stirrup *et al.*, 2018; Van Lelyveld *et al.*, 2012). Sin embargo, también hay estudios que presentaron resultados opuestos, y relacionaron una menor CV con una mayor tasa de recuperación. A priori, este segundo escenario podría tener una explicación basada en que cifras muy elevadas de manera persistente de CV, traducen la imposibilidad del sistema inmune para controlar la replicación y también se podrían relacionar con un agotamiento de las células que lo componen, limitando su función. (Chehimi *et al.*, 2007; Roul *et al.*, 2018). En cualquier caso, los límites de detección entre los trabajos difirieron, lo que dificultó la comparación de los resultados. Nuestros datos sobre la CV al diagnóstico fueron limitados, y aunque no hubo diferencias, no pudimos extraer conclusiones en este sentido.

Las cifras de CD4 antes del inicio de tratamiento fue determinante en muchos estudios sobre RID. Cuando el TAR se inició con un número de CD4 menor de 200 células/ $\mu$ L se consiguió una recuperación sólo en el 27% de los pacientes, mientras que con cifras de CD4 mayores, la recuperación se consiguió hasta en el 77% de los casos (Kaufmann, 2005; Loutfy *et al.*, 2010; Prabhakar *et al.*, 2011b; Roul *et al.*, 2018; Stirrup *et al.*, 2018; Torti *et al.*, 2012). En nuestro trabajo, la cifra de CD4 al diagnóstico es mayor en la cohorte 1, pero dado que solo se dispuso de este dato en un número limitado de pacientes, tampoco podemos extraer conclusiones fiables.

A pesar de partir de una cifra de CD4 al diagnóstico mayor en la cohorte 1 (aunque en ambos grupos por debajo de 200 células/ $\mu$ L), el nadir fue menor en este

grupo, lo que tuvo un impacto determinante en una peor recuperación, ya que es un parámetro fundamental como predictor independiente de recuperación inmune en la infección por VIH, y a su vez, está condicionado por otros factores relacionados con la activación del sistema inmune en este escenario de enfermedad avanzada (Casotti *et al.*, 2011; Goossens *et al.*, 2002; Julg *et al.*, 2012; Kaufmann, 2005; E. Negrodo *et al.*, 2010; Prabhakar *et al.*, 2011b; Van Lelyveld *et al.*, 2012). En los pacientes de nuestra cohorte 1, el tiempo de seguimiento fue menor, aunque en general en un rango muy superior al de otros estudios (Casotti *et al.*, 2011; Goossens *et al.*, 2002; Julg *et al.*, 2012; Kaufmann, 2005; Negrodo *et al.*, 2010; Prabhakar *et al.*, 2011b; Van Lelyveld *et al.*, 2012).

Los linfocitos CD8 sufren una expansión durante la infección aguda por VIH y se mantienen elevados durante la fase crónica, respondiendo más lentamente al inicio del TAR que los CD4. Los valores elevados de estas células y una mayor activación inmunitaria (CD38+ y DR+) meses después de haber iniciado tratamiento, se han relacionado con RID y una mayor mortalidad (Hunt, Cao, *et al.*, 2011; Trickey *et al.*, 2017). A nivel funcional son linfocitos con un perfil envejecido y por lo tanto menos eficaces, y su fenotipo y expansión influye en la depleción de células CD4, la fibrosis ganglionar que dificulta la presentación de antígenos y el agotamiento de las células colaboradoras Treg (Warren *et al.*, 2019). En nuestro caso, los linfocitos CD8 fueron mayores comparativamente que los CD4, aunque proporcionalmente el número de estos fue menos elevado en la cohorte 2, con un impacto menor en la ratio CD4/CD8. En cuanto a la activación de estas células, los marcadores no se manifestaron de manera distinta, y en la mayoría no fue valorable, por no alcanzar un porcentaje mínimo de células marcadas.

La ratio CD4/CD8 se ha postulado durante los últimos años como un parámetro que medía de una forma indirecta la situación del sistema inmunológico. Nuestros resultados arrojan una correlación inversa entre la ratio y los niveles de IgG, aunque los valores de esta inmunoglobulina no difieren en ambas cohortes de manera significativa. Como se describió previamente, una ratio baja o invertida de CD4/CD8 se ha identificado con un mayor estado de activación inmunológica y un aumento en parámetros relacionados con el envejecimiento: mayor proporción de células expresando CD282, CD57, kinurenina o triptófano (Bruno *et al.*, 2017; Deeks *et al.*, 2013; Hoenigl *et al.*, 2016; Rosado-Sánchez *et al.*, 2017; Roul *et al.*, 2018; Serrano-Villar *et al.*, 2016; Serrano-Villar, Moreno, *et al.*, 2014). La normalización del cociente

fue poco habitual en pacientes con RID que habían sufrido interrupciones del TAR (Seng *et al.*, 2015). Por el contrario, el inicio de TAR durante la infección aguda consiguió una normalización de la ratio hasta en el 84% de los pacientes (Hoenigl *et al.*, 2016; V. Leung *et al.*, 2013; Saracino *et al.*, 2014; Torti *et al.*, 2012). Se han publicado estudios observacionales que intentaron determinar si algún esquema de TAR era superior. Los inhibidores de la integrasa tuvieron el mayor beneficio a este respecto en comparación con los no análogos o los inhibidores de la proteasa (Caby *et al.*, 2017; De Salvador-Guillouët *et al.*, 2015; Masiá *et al.*, 2016; Serrano-Villar, Zhou, *et al.*, 2017). Otros factores se relacionaron con la inversión del cociente, y son comunes con los implicados en la RID. En un estudio antiguo realizado en individuos sanos, se llevó a cabo una descripción de los valores normales de CD4, CD8 y de la ratio CD4/CD8, y se observó que la edad influyó como un factor independiente en estos resultados (Amadori *et al.*, 1995). El nadir de CD4, o los valores de estos linfocitos previos al inicio del TAR, los niveles de CV o haber iniciado TAR en la época de la monoterapia y la biterapia, así como las infecciones crónicas por CMV o VEB también se relacionaron con una inversión del cociente (Caby *et al.*, 2016; Torti *et al.*, 2012).

Nuestro estudio sí demostró diferencias en la ratio CD4/CD8 entre ambas cohortes, y la mayoría de los pacientes con respuesta adecuada normalizaron el cociente, aunque no pudimos identificar diferencias clínicas entre los grupos. En los estudios publicados, los pacientes con una ratio CD4/CD8 tuvieron una peor respuesta a la inmunización, por una menor producción de IL-2 e IL-6 (Appay y Sauce, 2008; Fuster *et al.*, 2016) así como una mayor tasa de eventos no SIDA, deterioro del filtrado glomerular, variación en el cociente íntima/media y aumento en las alteraciones metabólicas (Mussini *et al.*, 2015; Roul *et al.*, 2018), o la incidencia de neoplasias (Cervero *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2018; Serrano-Villar, Pérez-Elías, *et al.*, 2014; Serrano-Villar, Sainz, *et al.*, 2014). Aunque no en todos los trabajos se ha demostrado, también existe una tendencia a una mayor mortalidad por eventos SIDA en este grupo de pacientes (Trickey *et al.*, 2017).

Respecto a otras células del hemograma, especial mención a los basófilos, componentes de la inmunidad innata, y células que, según trabajos recientes, también podrían ser infectadas por el VIH, e incluso, actuar como reservorio. Parece que, aunque el número de basófilos se mantiene estable a lo largo de la infección (Marone

*et al.*, 2016), en nuestro trabajo existen diferencias significativas entre ambas cohortes, y en el grupo de RID su número es mayor que en el grupo de RIA. En una situación de infección avanzada, podría aumentar este compartimento, pero sin embargo es difícil de explicar después de varios años de CV indetectable.

En los individuos con infección por VIH no controlada, es habitual detectar una hipergammaglobulinemia que se normaliza tras el inicio del TAR. En estos pacientes, además del aumento en la producción de inmunoglobulinas y la disminución en la respuesta a antígenos, se ha descrito la expansión de células B a nivel ganglionar, y a nivel periférico el predominio de un fenotipo inmaduro, y se ha relacionado a su vez, con mayor incidencia de neoplasias linfoides en estos pacientes (Moir y Fauci, 2008). En nuestro trabajo, todos los pacientes tuvieron un control adecuado de la replicación viral y no se demostraron diferencias en la producción de inmunoglobulinas. Sí que hubo diferencias estadísticamente significativas en el número de linfocitos B, que resultó mayor en la cohorte 2, es decir, en el grupo de pacientes con una respuesta favorable al TAR. A pesar de esto, no se pudieron detectar diferencias en la respuesta a la infección. En nuestro caso no se valoraron los fenotipos inmaduros ni de activación de las células B.

En el presente estudio se observó una disminución de linfocitos CD4 vírgenes en la cohorte de RID. Esto concuerda con resultados de publicaciones previas describiendo, al comparar individuos sin TAR o con RID, con otros sanos o con RIA, de manera constante una disminución en los valores absolutos de CD4 vírgenes y un aumento en el número de los CD4 con fenotipo memoria efectoras, pero con una reducción cuantitativa en el subconjunto de células de memoria central, presentando un aumento en de marcadores de senescencia como CD57+, y una tasa de muerte celular aumentada (Marziali *et al.*, 2006; Massanella *et al.*, 2015; Méndez-Lagares *et al.*, 2012; Rallón *et al.*, 2013; Robbins *et al.*, 2009; Saxena *et al.*, 2016). Esto tiene importancia, entre otras razones, porque los linfocitos de memoria son parte importante del reservorio (Lee *et al.*, 2020). No está establecido cuál es el número absoluto de células de memoria y vírgenes en individuos sanos, pero en nuestro trabajo, el número de células absolutas fue menor tanto en el subconjunto de memoria como en el de CD4 vírgenes. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de estos compartimentos, como tampoco se encontraron en otros trabajos, aunque sí se encontró un porcentaje de células vírgenes mayor en el compartimento de CD4 vírgenes en la cohorte 1 respecto a la 2,

y al revés en el compartimento memoria, y que es concordante con lo publicado hasta la fecha. En el caso de los CD8, también se ha descrito un aumento en el compartimento de memoria efectora, pero no en los linfocitos T vírgenes o de memoria central. Nuestros datos mostraron unos valores absolutos de CD8 vírgenes y memoria en la cohorte 1 menores también que en la cohorte 2, pero, si se observan en su conjunto, los linfocitos CD8 vírgenes están en un número proporcionalmente mucho mayor que los CD8 memoria. En otros estudios, estos cambios, se han objetivado no sólo en pacientes con RID, sino también en pacientes con un inicio más precoz del TAR (>350 células CD4) y con RIA, al menos a nivel de CD4 (Rudy *et al.*, 2015). Sin embargo, sí es cierto, que incluso en pacientes con un inicio muy precoz del TAR, hasta menos a 3 semanas tras la adquisición de la infección, los marcadores de translocación bacteriana, inflamación (IL-6), disminución de la producción tímica y la fibrosis siguen siendo mayores a los estudiados en población sana. Todos estos factores intervienen en la homeostasis de la célula T, que también se ve afectada por una replicación viral persistente (Hunt *et al.*, 2016; Rallón *et al.*, 2013).

En estos pacientes se ha estudiado también el estado de activación de linfocitos CD4 y CD8, que suele ser mayor que en los pacientes sanos y también mayor que en pacientes con RIA. Los marcadores de activación empleados varían entre los distintos trabajos y a veces se utilizan de manera individualizada, determinando activación celular con un solo marcador. Esto puede sesgar los resultados, ya que por ejemplo, el HLA DR, uno de los más utilizados junto con CD38+, puede estar presente hasta en el 40% de las células T (Fogli *et al.*, 2004). La inflamación sistémica que afecta a los pacientes VIH y la activación linfocitaria es una de las vías de agotamiento de CD4. Aunque hay publicaciones en las que se describe una reversión de este estado de activación, la mayoría de los datos en pacientes VIH con RID dejaron de manifiesto la persistencia de la activación linfocitaria a pesar de una viremia, a priori, controlada (Fernández, Rosenow, *et al.*, 2006). Aunque este sentido, la CV residual, que también se ha relacionado con la RID, tendría un papel importante en este escenario. Esto es así en los datos que presentamos donde objetivamos que los linfocitos CD4 activados (DR+/CD25+ y CD69+/DR+) fueron significativamente superiores en la cohorte 1. Este estado de activación no se observó en los linfocitos CD8 de nuestros pacientes con RID, pero sí hay autores que han relacionado la activación CD8 con la recuperación

de los linfocitos CD4 (Hunt, Cao, *et al.*, 2011; Nakanjako *et al.*, 2011; X. Zhang *et al.*, 2013).

Los linfocitos RTE, que pertenecen al compartimento de CD4 vírgenes, tendrían un papel en la patogenia de la depleción de CD4. Diferentes trabajos han planteado la importancia del volumen del timo medido por tomografía como predictor de recuperación de células T tras la infección, observando un tamaño mayor en los pacientes con RIA (De La Rosa *et al.*, 2002; Rb-Silva *et al.*, 2019; Rosado-Sánchez *et al.*, 2016; Ruiz-Mateos *et al.*, 2003). Directamente relacionado con esto, están los trabajos que identifican la edad del paciente con la regresión del timo como órgano de producción de este subtipo celular. En nuestro caso no se encontramos diferencias entre las dos cohortes estudiadas. Esto podría estar relacionado con el tamaño de la muestra, o bien, este factor podría tener menos peso que otros en la recuperación. Esto explicaría que los RTE se mantuviesen en ambos grupos en valores similares, pero los CD4 vírgenes totales estuviesen disminuidos en los pacientes con RID.

Se ha descrito el papel de los diferentes subtipos funcionales de linfocitos T helper implicados en las fases iniciales de la infección. En nuestro estudio investigamos si había diferencias en los distintos tipos funcionales de linfocitos T helper entre los pacientes con RID y RIA. Sólo observamos diferencias significativas entre las dos cohortes en las Treg, siendo mayor el número de estas células entre los pacientes con RID, como corresponde a la evidencia publicada. Las Treg (CD25 high Fox P3), inducen tolerancia a autoantígenos y limitan la activación inmune, también la respuesta antiviral. Están aumentadas en los pacientes con RID y su número directamente relacionado con el nadir de CD4 (Horta *et al.*, 2013; Rosado-Sánchez *et al.*, 2018; Saison *et al.*, 2014; Sauce *et al.*, 2011a). Además, su homeostasis se ve afectada también por la coinfección por el VHC (Gonzalez *et al.*, 2009), por lo que cabe recordar que ningún paciente de las cohortes tuvo una CV VHC detectable en el momento de la recogida de muestras. En nuestro caso, los valores de Treg se correlacionaron con la edad del paciente, el tiempo de evolución de la infección, y con un menor tiempo de TAR continuo. En cambio, no se pudo demostrar que existiese asociación con un menor grado de activación, y dado que la función de estas células es precisamente el control de la activación en otras poblaciones, es probable que sean funcionalmente menos activas o incapaces de bloquear el estado de hiperactivación de los pacientes con RID.

Las Th17, aumentan inicialmente como respuesta a la infección (Rosado-Sánchez *et al.*, 2018), pero ya en fases iniciales sufren un descenso marcado, que se relacionará con la RID y la progresión de la enfermedad. Sin embargo, con el inicio de TAR precoz, se ha descrito una recuperación completa en este compartimento (Schuetz *et al.*, 2014). Son células cruciales en la defensa de las mucosas a través de la producción de IL-17. Durante la infección por VIH su agotamiento favorece la translocación bacteriana (Rosado-Sánchez *et al.*, 2018). Estas células se infectan de manera preferente, pues comparten con las células Treg el receptor CCR6 que las hace más susceptibles a la infección. En nuestro trabajo, las células Th17 se correlacionaron con el tiempo de evolución de la enfermedad y de manera inversa con el nadir de CD4.

No se encontró correlación en los valores de Th1 frente a determinados tipos de infección como la tuberculosis, ni con la fagocitosis o la citotoxicidad NK. Tampoco la hubo entre los Th2 y los valores de linfocitos B y las diferentes clases y subclases de inmunoglobulinas. Tampoco se observó en ninguna de las cohortes un aumento de linfocitos T gamma-delta, con frecuencia aumentados en pacientes con infección por *Mycobacterium tuberculosis*, y que reconocen de forma HLA no restringida a moléculas lipídicas de las micobacterias. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre las dos cohortes en el caso del TCR *alfa-beta*, con un porcentaje mayor en la cohorte 1. Pero puesto que en la cohorte 2 la suma de los linfocitos T expresando TCR *alfa-beta* o *gamma-delta* no fue del 100% de los linfocitos, estos resultados se deben a un error metodológico, ya sea de marcaje celular o al gateo incorrecto en el momento de interpretar los datos en el citómetro. Hasta donde se sabe actualmente, no están descritas poblaciones de linfocitos T definidos como CD45+CD3+ que no expresen TCR *alfa-beta* o *gamma delta*.

Los fagocitos contribuyen al mantenimiento de la activación e inflamación persistente en pacientes VIH. Producen citoquinas inflamatorias y aumentan las moléculas de adhesión en superficie. A pesar de esto, tanto neutrófilos como monocitos tienen alteraciones en el esqueleto de actina y como consecuencia, en la quimiotaxis (Younas *et al.*, 2016). En la cohorte estudiada por nosotros, no observamos ninguna diferencia significativa en la capacidad de fagocitosis de los neutrófilos, ni el número ni en la intensidad. Al igual que en nuestro trabajo, otros autores no han observado cambios en la función fagocítica, pero sí hay publicaciones

que han identificado defectos de fagocitosis en pacientes con mal control inmunológico (Chen *et al.*, 1993; Flø *et al.*, 1994; Robert *et al.*, 2010), que podrían ser reversibles tras la administración de IL-1 (Mastroianni *et al.*, 2000).

Sin embargo, sí hemos identificado en nuestro estudio cambios en la fagocitosis de los monocitos. En la cohorte 1, se observó un aumento de monocitos con capacidad de fagocitosis en comparación con la cohorte 2. Los resultados publicados sobre disfunción en monocitos son, en general, menos claros que los referidos a otros compartimentos del sistema inmune (Younas *et al.*, 2016).

Múltiples estudios han dejado en evidencia el deterioro de la citotoxicidad NK en los pacientes VIH, en concreto en aquellos pacientes con RID. También en el número absoluto de células NK. El significado clínico de este hecho no es conocido. Por ejemplo, en el caso de los controladores élite, se ha visto que la función de las células NK se mantiene en niveles más cercanos a la normalidad. Tiene sentido que el nivel de activación de estas células, como ocurre en el resto del sistema inmune, se haya relacionado inversamente con los valores de CD4 en pacientes sin tratamiento antirretroviral y de manera directa con su actividad citolítica, estado que no parece normalizarse a pesar del inicio de TAR (Lichtfuss *et al.*, 2012; Parato *et al.*, 2002). Además, se observó una peor respuesta a la estimulación por citoquinas y una menor producción de INF que podría contribuir a un aumento en el número de infecciones y de tumores a largo plazo (Bayigga *et al.*, 2014; Giuliani *et al.*, 2017). En nuestro estudio, los pacientes con RID tuvieron una actividad citotóxica claramente menor que los pacientes con RIA, y aunque mejoró tras añadir IL-2, no alcanzó los niveles de la actividad basal que consiguieron los pacientes de la cohorte 2. Si bien esta disminución de citotoxicidad NK está en relación con una disminución en el número absoluto de NK en esta cohorte, el hecho de que no pueda ser rescatada por la activación con IL-2 sugiere además un estado disfuncional.



## 12. LIMITACIONES

El tamaño de la muestra, muy reducida es una limitación fundamental a la hora de extrapolar resultados a otras poblaciones. También el hecho de haberse limitado a un área geográfica con un tipo de pacientes de perfil concreto. Sin embargo, cada paciente de este estudio está estudiado exhaustivamente desde un punto de vista inmunológico, y previamente seleccionado con unos criterios más estrictos que en muchos de los trabajos que nos preceden.

Por otra parte, el seguimiento tan prolongado de los pacientes condiciona que no dispongamos de los datos relacionados con el momento del diagnóstico, sesgando parte de los resultados obtenidos.

Para el estudio la cohorte de pacientes con RIA fue el grupo control de los pacientes discordantes. Además, contábamos con 1 control sano en cada ensayo realizado. Sin embargo, disponer una cohorte de pacientes sanos podría aportar datos sobre la normalización de ciertos parámetros inmunológicos.

Por otra parte, los estudios funcionales deben ser realizados en fresco, manipulando las células lo antes posible tras la obtención de la muestra, lo que limita el tiempo durante el que se pueden trabajar las muestras. Esto limita a su vez la cantidad de estudios que se pueden realizar por paciente.

Por supuesto, no se han utilizado todos los marcadores disponibles para la máxima caracterización funcional de los linfocitos.

Como en los estudios previamente referenciados, los resultados de nuestro trabajo no son suficientes para determinar si estos son causa o consecuencia de la linfopenia CD4 de estos pacientes.



### 13. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de la RID en nuestro estudio fue menor que la referida en la mayoría de los trabajos publicados. Este dato debe ser valorado con cautela dado que no existen unos criterios precisos que definan esta entidad.
2. El tiempo de CV suprimida fue un factor determinante para diferenciar ambas cohortes. La recuperación inmune se observa durante muchos años, aunque siga siendo en menor medida.
3. El consumo previo de alcohol fue significativamente mayor en los pacientes con RID. Esto y el contexto social pudieron influir en otros factores determinantes para la recuperación inmune.
4. No se demostraron diferencias significativas en la incidencia de eventos, relacionados o no con sida, ni en la mortalidad.
5. En los pacientes con RID se objetivó una disminución significativa en valores absolutos de neutrófilos y basófilos en comparación con los pacientes con respuesta inmune adecuada.
6. Los pacientes con RID presentaron, además, una disminución en los valores absolutos de otras poblaciones linfocitarias (linfocitos T CD8+, linfocitos B, células NK) en comparación con los pacientes con RIA. En conjunto, estos datos reflejan una afectación transversal del sistema inmune.
7. Desde un punto de vista funcional, en el compartimento de los linfocitos T de los pacientes con RID se observó un aumento de linfocitos Treg, una mayor activación de los linfocitos T CD4+ y una disminución de los linfocitos CD4+ vírgenes, sin diferencias en los valores de RTE. Todos estos hallazgos pueden estar involucrados en la fisiopatología de la RID.
8. Se encontraron diferencias significativas en la capacidad de fagocitosis de los monocitos, siendo mayor en los pacientes con RID.

9. La citotoxicidad NK se vio significativamente disminuida en la cohorte de pacientes con RID en relación con los pacientes con RIA. La adición de IL-2 no fue capaz de restaurar la capacidad citotóxica de las células NK hasta los niveles observados en los pacientes con RIA. Estos datos sugieren que, además de un defecto cuantitativo, las células NK de los pacientes con RID presentan un bloqueo funcional.
  
10. El pequeño tamaño de la muestra podría influir en los resultados obtenidos.

## 14. ANEXOS

### ANEXO I: consentimiento informado.

HOJA DE INFORMACIÓN AL SUJETO PARTICIPANTE. SOLICITUD DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** “Respuesta inmunológica discordante. Factores epidemiológicos e inmunológicos implicados y evolución clínica”.

#### INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación sobre el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) en el que se le invita a participar. Por ello, queremos proporcionarle la información correcta y suficiente para que pueda valorar si desea o no participar en el estudio. Lea con atención esta hoja informativa y nosotros le aclararemos cualquier duda que le pueda surgir. El estudio cuenta con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Complejo Asistencial Universitario de León y del Hospital El Bierzo.

En primer lugar, queremos que sepa que su participación (o la de su familiar a su cargo) es **voluntaria**. Puede llevarse este documento a su casa para leerlo con más detenimiento y consultarlo con otras personas para decidir si desea participar en él o no. Si decide que no quiere participar, no se preocupe, esto no repercutirá de ninguna manera en la atención que todos los profesionales del Hospital le prestaremos. Por el contrario, si decide participar, sepa que puede retirarse de él cuando quiera y sin tener que dar explicaciones a nadie.

#### FINALIDAD DEL ESTUDIO

El grupo de médicos que solicita su participación está formado por médicos del Hospital Universitario de León y el Hospital El Bierzo, procedentes de diferentes especialidades (Internistas, Inmunólogos, Farmacéuticos) que, trabajando de forma coordinada, pretende profundizar en el conocimiento de los mecanismos inmunológicos que median en la recuperación inmunológica (recuperación de linfocitos CD4) en el VIH. El VIH produce en el ser humano fundamentalmente una inmunodeficiencia severa, que predispone a la aparición de determinadas infecciones

y tumores. Gracias a los avances en el tratamiento antirretroviral (TARGA), se ha conseguido que los pacientes infectados por este virus recuperen en número y función las células de las defensas (linfocitos CD4). Sin embargo, determinados pacientes no consiguen normalizar estas cifras, repercutiendo según algunos estudios en la aparición de algunas enfermedades durante la evolución de la enfermedad. Nos preguntamos qué factores influyen en esta respuesta al TARGA. Conociéndolos podríamos prevenir e instaurar medidas para evitarlo.

### **¿POR QUÉ ME OFRECEN PARTICIPAR A MI?**

La selección de las personas invitadas a participar depende de unos estrictos criterios que están detallados en el protocolo de la investigación. Estos criterios sirven para seleccionar a la población que mejor podría responder a los objetivos planteados en la investigación. Usted está invitado a participar porque cumple con esos requisitos. Se espera que participen en esta investigación 30 personas.

### **¿EN QUE CONSISTE MI PARTICIPACION?**

Para el diagnóstico de su enfermedad el médico que le atiende solicitará una serie de estudios que incluyen pruebas analíticas. Le pedimos que nos autorice, con fines de investigación, a *utilizar el material biológico de esos estudios que se practican de forma rutinaria en pacientes con la enfermedad que Vd. padece* (muestras de sangre, ADN, etc.), así como muestras adicionales de sangres que se obtendrían durante la misma extracción que las anteriores. Las muestras serán conservadas de forma anónima en el laboratorio de Inmunología del Complejo Hospitalario Universitario de León hasta la finalización del estudio y destruidas posteriormente a la finalización del mismo.

**El hecho de participar en el estudio no supone para Vd riesgo adicional alguno.**

BENEFICIOS

Es posible que este estudio no reporte beneficios directos para usted en el momento actual. La investigación pretende descubrir aspectos desconocidos o poco claros sobre su enfermedad. Sin embargo, los resultados que obtengamos pueden ayudarnos a mejorar de forma significativa nuestros conocimientos sobre el VIH. Esto podría ayudarnos en un futuro a mejorar nuestra capacidad para tratar mejor esta enfermedad.

Usted tendrá acceso, si lo desea, a los resultados obtenidos al finalizar el estudio, inicialmente en el plazo de aproximadamente 18 meses. Los miembros del equipo investigador le explicarán de la forma más clara posible las conclusiones obtenidas.

## CONFIDENCIALIDAD

Su identidad personal será disociada de las muestras que usted aporte para el estudio mediante la adjudicación de un código numérico, de tal forma que sólo los médicos que le prestan atención directa la conocerán. El tratamiento, la comunicación y la cesión de datos de carácter personal se ajusta a lo dispuesto en la Ley de Protección de Datos (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre). En todo momento Vd. Podrá acceder a sus datos, a modificarlos o a cancelarlos.

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en Reuniones y Publicaciones Científicas, manteniéndose siempre una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes participantes.

## COSTES

En este estudio no se contempla ninguna compensación económica para los participantes. Del mismo modo, todas las pruebas a realizar, así como cualquier consulta que desee realizar al médico sobre el objeto de la investigación serán gratuitas, no tendrán coste alguno para usted. Los investigadores que están a cargo

de este proyecto no reciben tampoco compensación económica alguna por realizar este estudio.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

Si tras leer detenidamente esta información y recibir las oportunas aclaraciones a todas las preguntas que pueda formular decide participar en el estudio deberá firmar el presente documento. Tanto si decide hacerlo como si no le interesa participar, muchas gracias por su colaboración.

Yo....., con DNI número ....., declaro haber leído y entendido la información que se me ha presentado y de la que se me entrega una copia.

Como ..... (enfermo, padre, madre o responsable legal, señale lo que proceda) **DOY MI CONSENTIMIENTO** voluntariamente para la utilización de las muestras de sangre, exclusivamente para los fines de investigación anteriormente citados.

En León, a .....

Fdo:

## 15. REFERENCIAS

- Abbas, W., y Herbein, G. (2012). Molecular understanding of HIV-1 latency. *Advances in Virology*, 2012(574967), 14. <https://doi.org/10.1155/2012/574967>
- Abel, A. M., Yang, C., Thakar, M. S., y Malarkannan, S. (2018). Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Frontiers in Immunology*, 9(AUG), 1869. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01869>
- Abrams, D., Lévy, Y., Losso, M., Babiker, A., Cooper, D., Darbyshire, J., Collins, E., Fox, L., Gordin, F., Lane, H., Lundgren, J., Mitsuyasu, R., Neaton, J., Phillips, A., Routy, J., Tambussi, G., y Wentworth, D. (2009). Interleukin-2 Therapy in Patients with HIV Infection. *New England Journal of Medicine*, 361(16), 1548-1559. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0903175>
- Amadori, A., Zamarchi, R., De Silvestro, G., Forza, G., Cavatton, G., Danieli, G. A., Clementi, M., y Chieco-Bianchi, L. (1995). Genetic control of the CD4/CD8 T-cell ratio in humans. *Nature Medicine*, 1(12), 1279-1283. <https://doi.org/10.1038/nm1295-1279>
- Appay, V., y Sauce, D. (2008). Invited Review Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *Journal of Pathology J Pathol*, 214(2), 231-241. <https://doi.org/10.1002/path.2276>
- Arnsten, J. H., Freeman, R., Howard, A. A., Floris-Moore, M., Lo, Y., y Klein, R. S. (2007). Decreased bone mineral density and increased fracture risk in aging men with or at risk for HIV infection. *AIDS*, 21(5), 617-623.
- Ayubi, E., Doosti-Irani, A., Moghaddam, A. S., Sani, M., Nazarzadeh, M., y Mostafavi, E. (2016). The clinical usefulness of tuberculin skin test versus interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis in HIV patients: A meta-Analysis. *PLoS ONE*, 11(9), e0161983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161983>
- Badano, M. N., Parodi, C., Aloisi, N., Corti, M., Elizalde de Bracco, M. M., y Baré, P. (2019). Influence of Hepatitis C virus coinfection on immune reconstitution in HIV subjects. *Medical Microbiology and Immunology*, 208(6), 747-756. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00619-4>

- Baker, Peng, G., Rapkin, J., Krason, D., Reilly, C., Cavert, W., Abrams, P. D. I., MacArthur, R. D., Henry, K., y Neaton, J. D. (2008). Poor initial CD4+ recovery with HAART prolongs immune depletion and increases risk of AIDS and non-AIDS disease. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 48(5), 541-546.  
<https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31817bebb3>. Poor
- Baker, Peng, G., Rapkin, J., Krason, D., Reilly, C., Cavert, W. P., Abrams, D. I., MacArthur, R. D., Henry, K., y Neaton, J. D. (2008). Poor Initial CD4+ Recovery With Antiretroviral Therapy Prolongs Immune Depletion and Increases Risk for AIDS and Non-AIDS Diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 48(5), 541-546.  
<https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31817bebb3>
- Baker, J. V, Hullsiek, K. H., Prosser, R., Duprez, D., Grimm, R., Tracy, R. P., Rhame, F., Henry, K., y Neaton, J. D. (2012). Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor and HMG-CoA Reductase Inhibitor as Adjunct Treatment for Persons with HIV Infection: A Feasibility Randomized Trial. *PLoS ONE*, 7(10).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046894>
- Barouch, D. H., y Deeks, S. G. (2014). Immunologic strategies for HIV-1 remission and eradication. *Science*, 345(6193), 169-174.  
<https://doi.org/10.1126/science.1255512>
- Barreiro, P., y Soriano, V. (2006). Suboptimal CD4 gains in HIV-infected patients receiving didanosine plus tenofovir. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(5), 806-809. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl045>
- Batista, G., Buvé, A., Ngom Gueye, N. F., Manga, N. M., Diop, M. N., Ndiaye, K., Thiam, A., Ly, F., Diallo, A., Ndour, C. T., y Seydi, M. (2015). Initial suboptimal CD4 reconstitution with antiretroviral therapy despite full viral suppression in a cohort of HIV-infected patients in Senegal Restauration initiale sub-optimale des CD4 malgré un succès virologique du traitement antirétroviral dans une .  
*Médecine et maladies infectieuses*, 45, 199-206.  
<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2015.03.009>
- Bayigga, L., Nabatanzi, R., Sekiziyivu, P. N., Mayanja-Kizza, H., Kanya, M. R., Kambugu, A., Olobo, J., Kiragga, A., Kirimunda, S., Joloba, M., y Nakanjako, D. (2014). High CD56++CD16- natural killer (NK) cells among suboptimal immune responders after four years of suppressive antiretroviral therapy in an African

adult HIV treatment cohort. *BMC Immunology*, 15(2).

<https://doi.org/10.1186/1471-2172-15-2>

- Best, C., Struthers, H., Laciny, E., Royal, M., Reeds, D. N., y Yarasheski, K. E. (2015). Sitagliptin reduces inflammation and chronic immune cell activation in HIV+ adults with impaired glucose tolerance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(7), 2621-2629. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-1531>
- Binquet, C., y Chêne, G. (2001). Modeling changes in CD4-positive T-lymphocyte counts after the start of highly active antiretroviral therapy and the relation with risk of opportunistic infections: The aquitaine cohort, 1996-1997. *American Journal of Epidemiology*, 153(4), 386-393. <https://doi.org/10.1093/aje/153.4.386>
- Brunetta, E., Fogli, M., Varchetta, S., Bozzo, L., Hudspeth, K. L., Marcenaro, E., Moretta, A., y Mavilio, D. (2009). The decreased expression of Siglec-7 represents an early marker of dysfunctional natural killer-cell subsets associated with high levels of HIV-1 viremia. *Blood*, 114(18), 3822. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-06-226332>
- Bruno, G., Saracino, A., Monno, L., y Angarano, G. (2017). The revival of an “old” marker: CD4/CD8 ratio. *AIDS Reviews*, 19(2), 81-88.
- Buzón, M. J., Massanella, M., Llibre, J., Esteve, A., Dahl, V., Puertas, M., Gatell, J. M., Domingo, P., Paredes, R., Sharkey, M., Palmer, S., Stevenson, M., Clotet, B., Blanco, J., y Martinez-Picado, J. (2010). HIV-1 replication and immune dynamics are affected by raltegravir intensification of HAART-suppressed subjects. *Nature Medicine*, 16(4), 460-465. <https://doi.org/10.1038/nm.2111>
- Byakwaga, H., Kelly, M., Purcell, D. F. J., French, M. A., Amin, J., Lewin, S. R., Haskelberg, H., Kelleher, A. D., Garsia, R., Boyd, M. A., Cooper, D. A., y Emery, S. (2011). Intensification of antiretroviral therapy with raltegravir or addition of hyperimmune bovine colostrum in HIV-infected patients with suboptimal CD4 + T-cell response: A randomized controlled trial. *Journal of Infectious Diseases*, 204(10), 1532-1540. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir559>
- Caby, F., Guihot, A., Lambert-Niclot, S., Guiguet, M., Boutolleau, D., Agher, R., Valantin, M. A., Tubiana, R., Calvez, V., Marcelin, A. G., Carcelain, G., Autran, B., Costagliola, D., y Katlama, C. (2016). Determinants of a low CD4/CD8 ratio in HIV-1-infected individuals despite long-term viral suppression. *Clinical Infectious*

*Diseases*, 62(10), 1297-1303. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw076>

Caby, F., Mary-Krause, M., Duval, X., Guiguet, M., Boue, F., Gallien, S., Genet, P., Gras, G., Launay, O., Le Loup, G., Lelievre, J. D., Moreau, J., Tattevin, P., Teicher, E., Zucman, D., Weiss, L., Grabar, S., y Costagliola, D. (2017).

CD4+/CD8+ ratio restoration in long-term treated HIV-1-infected individuals. *AIDS*, 31(12), 1685-1695. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001533>

Cardona, P.-J. (2017). Patogénesis de la tuberculosis y otras micobacteriosis.

*Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(1), 38-46.

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.10.015>

Carrico, A. W., Hunt, P. W., Emenyonu, N. I., Muyindike, W., Ngabirano, C., Cheng, D. M., Winter, M. R., Samet, J. H., y Hahn, J. A. (2015). Unhealthy Alcohol Use is Associated with Monocyte Activation Prior to Starting Anti-Retroviral Therapy.

*Alcohol Clin Exp Res*, 39(12), 2422-2426. <https://doi.org/10.1111/acer.12908>

Casotti, J. A. S., Passos, L. N., Oliveira, F. J. P., y Cerutti, C. (2011). Factors associated with paradoxical immune response to antiretroviral therapy in HIV infected patients: A case control study. *BMC Infectious Diseases*, 11(1), 306.

<https://doi.org/10.1186/1471-2334-11-306>

Cattamanchi, A., Smith, R., Steingart, K. R., John, Z., Date, A., Coleman, C., y Barbara, J. (2011). IGRA for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals- a systematic review and meta-analysis. *J. Acquired Immune Deficiency Syndrome*, 56(3), 230-238.

<https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31820b07ab>. Interferon-gamma

<https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31820b07ab>. Interferon-gamma

Cenderello, G., y de Maria, A. D. (2015). RID in HIV patients with TARGA clinical evaluation, classification, management prospects. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 14(1), 29-40.

Cervero, M., Torres, R., Agud, J. L., Pastor, S., y Jurdado, J. J. (2016).

Envejecimiento e influencia de la inversión del cociente CD4/CD8 en la incidencia de las comorbilidades y mortalidad de una cohorte de pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana. *Medicina Clínica*, 146(5), 189-193. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2015.10.014>

<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2015.10.014>

Chehimi, J., Azzoni, L., Farabaugh, M., Creer, S. A., Tomescu, C., Hancock, A.,

- Mackiewicz, A., D'Alessandro, L., Ghanekar, S., Foulkes, A. S., Mounzer, K., Kostman, J., y Montaner, L. J. (2007). Baseline Viral Load and Immune Activation Determine the Extent of Reconstitution of Innate Immune Effectors in HIV-1-Infected Subjects Undergoing Antiretroviral Treatment. *The Journal of Immunology*, 179(4), 2642-2650. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.179.4.2642>
- Chen, T. ., Roberts, R. ., Wu, K. G., Ank, B. ., y Stiehm, E. R. (1993). Decreased Superoxide Anion and Hydrogen Peroxide Production by Neutrophils and Monocytes in Human Immunodeficiency Virus-Infected Children and Adults. *Pediatric Research*, 34(4), 544-550.
- Choi, A. I., Shlipak, M. G., Hunt, P. W., Martin, J. N., y Deeks, S. G. (2009). HIV-infected persons continue to lose kidney function despite successful antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)*, 23(16), 2143-2149. <https://doi.org/10.1097/qad.0b013e3283313c91>
- Chomont, N., El-far, M., Ancuta, P., Trautmann, L., Procopio, F. A., Yassine-diab, B., Boucher, G., Boulassel, R., Ghattas, G., Brechley, J. M., Schacker, T. W., Hill, B. J., Douek, D. C., Routy, J., y Haddad, E. K. (2010). HIV persistence is driven by homeostatic proliferation. *Natural medicine*, 15(8), 893-900. <https://doi.org/10.1038/nm.1972.HIV>
- Cillo, A. R., Hilldorfer, B. B., Lalama, C. M., McKinnon, J. E., Coombs, R. W., Tenorio, A. R., Fox, L., Gandhi, R. T., Ribaldo, H., Currier, J. S., Gulick, R. M., Wilkin, T. J., y Mellors, J. W. (2015). Virologic and immunologic effects of adding maraviroc to suppressive antiretroviral therapy in individuals with suboptimal CD4+ T-cell recovery. *AIDS*, 29(16), 2121-2129. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000810>
- Cockerham, L. R., Siliciano, J. D., Sinclair, E., O'doherty, U., Palmer, S., Yukl, S. A., Strain, M. C., Chomont, N., Hecht, F. M., Siliciano, R. F., Richman, D. D., y Deeks, S. G. (2014). CD4 + and CD8 + T Cell Activation Are Associated with HIV DNA in Resting CD4 + T Cells. *PLoS ONE*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110731>
- Costiniuk, C. T., Salahuddin, S., Farnos, O., Olivenstein, R., Elie Pagliuzza, A., Orlova, M., Schurr, E., De Castro, C., Bourbeau, J., Routy, J.-P., Ancuta, P., Chomont, N., y Jenabian, M.-A. (2018). HIV persistence in mucosal CD4 R T

cells within the lungs of adults receiving long-term suppressive antiretroviral therapy. *AIDS*, 32, 2279-2289. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001962>

D'Ettorre, G., Rossi, G., Scagnolari, C., Andreotti, M., Giustini, N., Serafino, S., Schietroma, I., Corano Scheri, G., Najafi Fard, S., Trinchieri, V., Mastromarino, P., Selvaggi, C., Scarpona, S., Fanello, G., Fiocca, F., Ceccarelli, G., Antonelli, G., Brenchley, J. M., y Vullo, V. (2017). Probiotic supplementation promotes a reduction in T-cell activation, an increase in Th17 frequencies, and a recovery of intestinal epithelium integrity and mitochondrial morphology in ART-treated HIV-1-positive patients. *Immunity Inflammation and Disease*, 5(3), 244-260. <https://doi.org/10.1002/iid3.160>

Da Silva, L. T., Da Silva, W. C., De Almeida, A., Da Silva Reis, D., Santillo, B. T., Rigato, P. O., Da Silva Duarte, A. J., y Oshiro, T. M. (2018). Characterization of monocyte-derived dendritic cells used in immunotherapy for HIV-1-infected individuals. *Immunotherapy*, 10(10), 871-885. <https://doi.org/10.2217/imt-2017-0165>

De La Rosa, R., Leal, M., Rubio, A., Martínez-Moya, M., Delgado, J., Ruíz-Mateos, E., Merchante, E., Sánchez-Quijano, A., Lissen, E., Martinez-Moya, M., Delgado, J., Ruiz-Mateos, E., Merchante, E., Sánchez-Quijano, A., Lissen, E., Martínez-Moya, M., Delgado, J., Ruíz-Mateos, E., Merchante, E., ... Lissen, E. (2002). Baseline thymic volume is a predictor for CD4 T cell repopulation in adult HIV-infected patients under highly active antiretroviral therapy. *Antiviral Therapy*, 7(3), 159-163.

De Salvador-Guillouët, F., Sakarovitch, C., Durant, J., Risso, K., Demonchy, E., Roger, P. M., y Fontas, E. (2015). Antiretroviral Regimens and CD4/CD8 Ratio Normalization in HIV-Infected Patients during the Initial Year of Treatment: A Cohort Study. *PLoS ONE*, 10(10), e0140519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140519>

Deeks, S. G., Lewin, S. R., y Havlir, D. V. (2013). The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. En *The Lancet* (Vol. 382, Número 9903, pp. 1525-1533). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61809-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61809-7)

Dokun, A. O., Kim, S., Smith, H. R. C., Kang, H.-S. P., Chu, D. T., y Yokoyama, W. M. (2001). Specific and nonspecific NK cell activation during virus infection.

*Nature Immunology*, 2, 951-956. <https://doi.org/10.1038/ni714>

- Donaghy, H., Gazzard, B., Gotch, F., y Patterson, S. (2003). Dysfunction and infection of freshly isolated blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients infected with HIV-1. *Blood*, 101(11), 4505-4511.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2002-10-3189>
- Dronda, F., Moreno, S., Moreno, A., Casado, J. L., Pérez-Elías, M. J., y Antela, A. (2002). Long-Term Outcomes among Antiretroviral-Naive Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients with Small Increases in CD4 + Cell Counts after Successful Virologic Suppression. *Clinical Infectious Diseases*, 35(8), 1005-1009. <https://doi.org/10.1086/342695>
- Engsig, F., Collins, S., Litt, D., Flynn, S., Ramsay, M., Slack, M. P. E., y Shamez, N. (2015). Long-term mortality in HIV positive individuals virally suppressed for more than three years with incomplete CD4 recovery. *Clinical Infectious Diseases*, 58(9), 1312-1321.
- Engsig, F., Gerstoft, J., Kronborg, G., Larsen, C. S., Pedersen, G., Røge, B., Jensen, J., Nielsen, L. N., y Obel, N. (2010). Long-term mortality in hiv patients virally suppressed for more than three years with incomplete cd4 recovery: A cohort study. *BMC Infectious Diseases*, 10(1), 318. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-318>
- Engsig, F. N., Zangerle, R., Katsarou, O., Dabis, F., Reiss, P., Gill, J., Porter, K., Sabin, C., y Riordan, A. (2014). Long-term mortality in HIV positive individuals virally suppressed for more than three years with incomplete CD4 recovery. *Clinical Infectious Diseases*, 58(9), 1312-1321.
- EuroCoord, T. O. I. P. T. of the C. of O. H. E. R. in E. (COHERE). (2012a). Cd4 cell count and the risk of AIDS or death in HIV-infected adults on combination antiretroviral therapy with a suppressed viral load: A longitudinal cohort study from COHERE. *PLoS Medicine*, 9(3).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001194>
- EuroCoord, T. O. I. P. T. of the C. of O. H. E. R. in E. (COHERE). (2012b). CD4 Cell Count and the Risk of AIDS or Death in HIV-Infected Adults on Combination Antiretroviral Therapy with a Suppressed Viral Load: A Longitudinal Cohort Study from COHERE. *PLoS Medicine*, 9(3), 1-9.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001194>

Falster, K., Petoumenos, K., Chuah, J., Mijch, A., Mulhall, B., Kelly, M., y Cooper, D. A. (2009). Poor baseline immune function predicts an incomplete immune response to combination antiretroviral treatment despite sustained viral suppression NIH Public Access. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 50(3), 307-313. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181945ed4>

Fernandez, S., Price, P., McKinnon, E. J., Nolan, R. C., y French, M. A. (2006). Low CD4 + T-cell counts in HIV patients receiving effective antiretroviral therapy are associated with CD4 + T-cell activation and senescence but not with lower effector memory T-cell function. *Clinical Immunology*, 120(2), 163-170. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.04.570>

Fernandez, S., Rosenow, A. A., James, I. R., Roberts, S. G., Nolan, R. C., French, M. A., y Price, P. (2006). 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. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 41(1), 1-5. <https://doi.org/10.1097/01.qai.0000188990.57760.e3>

Ferrando-Martinez, S., De Pablo-Bernal, R. S., De Luna-Romero, M., De Ory, S. J., Genebat, M., Pacheco, Y. M., Parras, F. J., Montero, M., Blanco, J. R., Gutierrez, F., Santos, J., Vidal, F., Koup, R. A., Muñoz-Fernández, M. Á., Leal, M., y Ruiz-Mateos, E. (2017). Thymic function failure is associated with human immunodeficiency virus disease progression. *Clinical Infectious Diseases*, 64(9), 1191-1197. <https://doi.org/10.1093/cid/cix095>

Flø, R. W., Næss, A., Nilsen, A., Harthug, S., y Solberg, C. O. (1994). A longitudinal study of phagocyte function in HIV-infected patients. *AIDS (London, England)*, 8(6), 771-777. <https://doi.org/10.1097/00002030-199406000-00008>

Florence, E., Lundgren, J., Dreezen, C., Fisher, M., Kirk, O., Blaxhult, A., Panos, G., Katlama, C., Vella, S., y Phillips, A. (2003). Factors associated with a reduced CD4 lymphocyte count response to HAART despite full viral suppression in the EuroSIDA study. *HIV Medicine*, 4(3), 255-262. <https://doi.org/10.1046/j.1468-1293.2003.00156.x>

- Flórez-Álvarez, L., Hernandez, J. C., y Zapata, W. (2018). NK cells in HIV-1 infection: From basic science to vaccine strategies. *Frontiers in Immunology*, 9(OCT), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02290>
- Fogli, M., Costa, P., Murdaca, G., Setti, M., Mingari, M. C., Moretta, L., Moretta, A., y De Maria, A. (2004). Significant NK cell activation associated with decreased cytolytic function in peripheral blood of HIV-1-infected patients. *European Journal of Immunology*, 34(8), 2313-2321. <https://doi.org/10.1002/EJI.200425251>
- Ford, N., Migone, C., Calmy, A., Kerschberger, B., Kanters, S., Nsanzimana, S., Mills, E. J., Meintjes, G., Vitoria, M., Doherty, M., y Shubber, Z. (2018). Benefits and risks of rapid initiation of antiretroviral therapy. *AIDS*, 32(1), 17-23. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001671>
- Fuster, F., Vargas, J. I., Jensen, D., Sarmiento, V., Acuña, P., Peirano, F., Fuster, F., Arab, J. P., y Martínez, F. (2016). CD4/CD8 ratio as a predictor of the response to HBV vaccination in HIV-positive patients: A prospective cohort study. *Vaccine*, 34(16), 1889-1895. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.02.055>
- Gaardbo, J. C., Hartling, H. J., Gerstoft, J., y Nielsen, S. D. (2012). Incomplete Immune Recovery in HIV Infection: Mechanisms, Relevance for Clinical Care, and Possible Solutions. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, 1-17. <https://doi.org/10.1155/2012/670957>
- Gandhi, R. T., McMahon, D. K., Bosch, R. J., Lalama, C. M., Cyktor, J. C., Macatangay, B. J., Rinaldo, C. R., Riddler, S. A., Hogg, E., Godfrey, C., Collier, A. C., Eron, J. J., y Mellors, J. W. (2017). Levels of HIV-1 persistence on antiretroviral therapy are not associated with markers of inflammation or activation. *PLoS Pathogens*, 13(4), e1006285. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006285>
- Ganesan, A., Crum-Cianflone, N., Higgins, J., Qin, J., Rehm, C., Metcalf, J., Brandt, C., Vita, J., Decker, C. F., Sklar, P., Bavaro, M., Tasker, S., Follmann, D., y Maldarelli, F. (2011). High Dose Atorvastatin Decreases Cellular Markers of Immune Activation Without Affecting HIV-1 RNA Levels: Results of a Double-blind Randomized Placebo Controlled Clinical Trial. *Journal of Infectious Diseases*, 203(6), 756-764. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq115>

- Garcia-Broncano, P., Medrano, L. M., y Berenguer, J. (2020). Mild profile improvement of immune biomarkers in HIV/HCV-coinfected patients who removed hepatitis C after HCV treatment: A prospective study. *Journal of Infection*, 80(1), 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2019.09.020>
- García, M., Jiménez-Sousa, M. A., Blanco, J., Restrepo, C., Pacheco, Y. M., Brochado-Kith, Ó., Carlos López-Bernaldo, J., Gutiérrez, F., Portilla, J., Estrada, V., Górgolas, M., Cabello, A., Resino, S., Benito, J. M., y Rallón, N. (2019). CD4 recovery is associated with genetic variation in INFGamma and IL19 genes. *Antiviral Research*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104577>
- Gilson, R., Man, S. L., Copas, A., Rider, A., Forsyth, S., Hill, T., Bansi, L., Porter, K., Gazzard, B., Orkin, C., Pillay, D., Schwenk, A., Johnson, M., Easterbook, P., Walsh, J., Fisher, M., Leen, C., Anderson, J., y Sabin, C. A. (2010). Discordant responses on starting highly active antiretroviral therapy: Suboptimal CD4 increases despite early viral suppression in the UK Collaborative HIV Cohort (UK CHIC) Study. *HIV Medicine*, 11(2), 152-160. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2009.00755.x>
- Giuliani, E., Vassena, L., Di Cesare, S., Malagnino, V., Desimio, M. G., Andreoni, M., Barnaba, V., y Doria, M. (2017). NK cells of HIV-1-infected patients with poor CD4 + T-cell reconstitution despite suppressive HAART show reduced IFN- $\gamma$  production and high frequency of autoreactive CD56 bright cells. *Immunology Letters*, 190, 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.08.014>
- Gómez-Mora, E., Massanella, M. humoral response to cytomegalovirus in H. individuals with poor C. T. immune recovery, García, E., Giles, D., Bernadó, M., Urrea, V., Carrillo, J., Ouchi, D., Puig, J., Negrodo, E., Clotet, B., Blanco, J., y Cabrera, C. (2017). Elevated humoral response to cytomegalovirus in HIV-infected individuals with poor CD4+ T-cell immune recovery. *PLoS ONE*, 12(9), e0184433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184433>
- Gondois-Rey, F., Chéret, A., Granjeaud, S., Mallet, F., Bidaut, G., Lécuroux, C., Ploquin, M., Müller-Trutwin, M., Rouzioux, C., Avettand-Fenoël, V., Moretta, A., Pialoux, G., Goujard, C., Meyer, L., y Olive, D. (2017). NKG2C + memory-like NK cells contribute to the control of HIV viremia during primary infection: Optiprim-ANRS 147. *Nature Publishing Group*, 6.

<https://doi.org/10.1038/cti.2017.22>

Gonzalez, V. D., Falconer, K., Blom, K. G., Reichard, O., Mørn, B., Laursen, A. L., Weis, N., Alaeus, A., y Sandberg, J. K. (2009). High Levels of Chronic Immune Activation in the T-Cell Compartments of Patients Coinfected with Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus Type 1 and on Highly Active Antiretroviral Therapy Are Reverted by Alpha Interferon and Ribavirin Treatment. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 83(21), 11407-11411.

<https://doi.org/10.1128/JVI.01211-09>

Goossens, V. J., Schreij, G., Van Der Geest, S., Van Leeuwen, D. M., Baas, D. C., Bruggeman, C. A., y Van Der Ven, A. J. (2002). A delay in CD4 cell response after initiation of highly active antiretroviral therapy is associated with the presence of anti-cytomegalovirus but not with anti-herpes simplex virus antibodies. *AIDS*, 16(12), 1682-1684. <https://doi.org/10.1097/00002030-200208160-00015>

Grabar, S., Le Moing, V., Goujard, C., Leport, C., Kazatchkine, M., Costagliola, D., y Weiss, L. (2000). Clinical outcome of patients with HIV-1 infection according to immunologic and virologic response after 6 months of highly active antiretroviral therapy. *Annals of Internal Medicine*, 133(6). <https://doi.org/10.7326/0003-4819-133-6-200009190-00007>

Graham, S. M., Mwilu, R., y Conrad Liles, W. (2013). Clinical utility of biomarkers of endothelial activation and coagulation for prognosis in HIV infection: A systematic review. *Virulence*, 4(6), 564-571. <https://doi.org/10.4161/viru.25221>

Guiguet, M., Boué, F., Cadranel, J., Lang, J.-M., Rosenthal, E., y Costagliola, D. (2009). Effect of immunodeficiency, HIV viral load, and antiretroviral therapy on the risk of individual malignancies (FHDH-ANRS CO4): a prospective cohort study. *Lancet Oncology*, 10, 1152-1159. <https://doi.org/10.1016/S1470>

Gutierrez, F., Padilla, S., Masia, M., Iribarren, J. A., Moreno, S., Viciano, P., Aleman, R., Vidal, F., Salavert, M., Blanco, J. R., Leal, M., Dronda, F., Hoyos, S. P., Amo, J. del, y CORIS-MD (see appendix). (2008). Patients Characteristics and Clinical Implications of Suboptimal CD4 T-Cell Gains After 1 Year of Successful Antiretroviral Therapy. *Current HIV Research*, 6(2), 100-107.

<https://doi.org/10.2174/157016208783885038>

- Han, W. M., Apornpong, T., Kerr, S. J., Hiransuthikul, A., Gatechompol, S., Do, T., Ruxrungtham, K., y Avihingsanon, A. (2018). CD4/CD8 ratio normalization rates and low ratio as prognostic marker for non-AIDS defining events among long-term virologically suppressed people living with HIV NCT00411983 NCT 11 Medical and Health Sciences 1103 Clinical Sciences. *AIDS Research and Therapy*, 15(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12981-018-0200-4>
- Hatano, H., Hayes, T. L., Dahl, V., Sinclair, E., Lee, T. H., Hoh, R., Lampiris, H., Hunt, P. W., Palmer, S., McCune, J. M., Martin, J. N., Busch, M. P., Shacklett, B. L., y Deeks, S. G. (2011). A randomized, controlled trial of raltegravir intensification in antiretroviral-treated, HIV-infected patients with a suboptimal CD4+ T cell response. *Journal of Infectious Diseases*, 203(7), 960-968. <https://doi.org/10.1093/infdis/jjq138>
- Hatano, H., Jain, V., Hunt, P. W., Lee, T.-H., Sinclair, E., Do, T. D., Hoh, R., Martin, J. N., Mccune, J. M., Hecht, F., Busch, M. P., y Deeks, S. G. (2012). Cell-Based Measures of Viral Persistence Are Associated With Immune Activation and Programmed Cell Death Protein 1 (PD-1)-Expressing CD4 + T cells. *Journal of Infectious Diseases*, 208(1), 50-56. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis630>
- Havlir, D. V., Gilbert, P. B., Bennett, K., Collier, A. C., Hirsch, M. S., Tebas, P., Adams, E. M., Wheat, L. J., Goodwin, D., Schnittman, S., Holohan, M. K., y Richman, D. D. (2001). Effects of treatment intensification with hydroxyurea in HIV-infected patients with virologic suppression. *AIDS*, 15(11), 1379-1388. <https://doi.org/10.1097/00002030-200107270-00007>
- Hazenberg, M. D., Hamann, D., Schuitemaker, H., y Miedema, F. (2000). T cell depletion in HIV-1 infection: How CD4+ T cells go out of stock. *Nature Immunology*, 1(4), 285-289. <https://doi.org/10.1038/79724>
- Ho, J. E., Scherzer, R., Hecht, F. M., Maka, K., Selby, V., Martin, J. N., Ganz, P., Deeks, S. G., y Hsue, P. Y. (2012). The association of CD4 R T-cell counts and cardiovascular risk in treated HIV disease. *AIDS*, 26(February), 1115-1120. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328352ce54>
- Hocqueloux, L., ronique Avettand-Fè noë, V., Jacquot, S., Prazuck, T., Legac, E., Mé lard, A., Niang, M., Mille, C., Le Moal, G., Viard, J.-P., Rouzioux, C., y A-f, V. (2013). Long-term antiretroviral therapy initiated during primary HIV-1 infection is

key to achieving both low HIV reservoirs and normal T cell counts. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(5), 1169-1178.

<https://doi.org/10.1093/jac/dks533>

Hoeningl, M., Chaillon, A., y Little, S. J. (2016). CD4/CD8 Cell Ratio in Acute HIV Infection and the Impact of Early Antiretroviral Therapy. En *Clinical Infectious Diseases* (Vol. 63, Número 3, pp. 425-426). Oxford University Press.

<https://doi.org/10.1093/cid/ciw293>

Horta, A., Nobrega, C., Amorim-Machado, P., Coutinho-Teixeira, V., Barreira-Silva, P., Boavida, S., Costa, P., Sarmiento-Castro, R., Castro, A. G., y Correia-Neves, M. (2013). Poor Immune Reconstitution in HIV-Infected Patients Associates with High Percentage of Regulatory CD4 + T Cells. *PLoS ONE*, 8(2), e57336.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057336>

Hunt, Deeks, S. G., Hayes, T. L., Somsouk, M., Funderburg, N. T., Claggett, B., McLaughlin, B., Shulman, N. S., Hunt, P. W., Landay, A. L., Schacker, T. W., Lederman, M. M., Palmer, S., Rodriguez, B., Shacklett, B. L., Gilman, L. E., Martin, J. N., Adeyemi, O., y Dahl, V. (2013). The immunologic effects of maraviroc intensification in treated HIV-infected individuals with incomplete CD4+ T-cell recovery: a randomized trial. *Blood*, 121(23), 4635-4646.

<https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-436345>

Hunt, P. W., Cao, H. L., Muzoora, C., Ssewanyana, I., Bennett, J., Emenyonu, N., Kembabazi, A., Neilands, T. B., Bangsberg, D. R., Deeks, S. G., y Martin, J. N. (2011). Impact of CD8+ T Cell Activation on CD4+ T Cell Recovery and Mortality in HIV-infected Ugandans Initiating Antiretroviral Therapy. *AIDS*, 25(17), 2123-2131. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32834c4ac1>

Hunt, P. W., Lee, S. A., y Siedner, M. J. (2016). Immunologic Biomarkers, Morbidity, and Mortality in Treated HIV Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 214.

<https://doi.org/10.1093/infdis/jiw275>

Hunt, P. W., Martin, J. N., Sinclair, E., Epling, L., Teague, J., Jacobson, M. A., Tracy, R. P., Corey, L., y Deeks, S. G. (2011). Valganciclovir reduces T cell activation in HIV-infected individuals with incomplete CD4+ T cell recovery on antiretroviral therapy. *Journal of Infectious Diseases*, 203(10), 1474-1483.

<https://doi.org/10.1093/infdis/jir060>

- Huo, Z. yu, y Peng, L. (2016). Accuracy of the interferon- $\gamma$  release assay for the diagnosis of active tuberculosis among HIV-seropositive individuals: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 22(16), 350. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1687-8>
- Isgrò, A., Leti, W., De Santis, W., Marziali, M., Esposito, A., Fimiani, C., Luzi, G., Pinti, M., Cossarizza, A., Aiuti, F., y Mezzaroma, I. (2008). Altered Clonogenic Capability and Stromal Cell Function Characterize Bone Marrow of HIV-Infected Subjects with Low CD4 + T Cell Counts Despite Viral Suppression during HAART. *Clinical Infectious Diseases*, 46(12), 1902-1910. <https://doi.org/10.1086/588480>
- Jacobson, J. M., Bosinger, S. E., Kang, M., Belaunzaran-Zamudio, P., Matining, R. M., Wilson, C. C., Flexner, C., Clagett, B., Plants, J., Read, S., Purdue, L., Myers, L., Boone, L., Tebas, P., Kumar, P., Clifford, D., Douek, D., Silvestri, G., Landay, A. L., y Lederman, M. M. (2016). The Effect of Chloroquine on Immune Activation and Interferon Signatures Associated with HIV-1. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 32(7). <https://doi.org/10.1089/aid.2015.0336>
- Jain, V., Hartogensis, W., Bacchetti, P., Hunt, P. W., Hatano, H., Sinclair, E., Epling, L., Lee, T.-H., Busch, M. P., Mccune, J. M., Pilcher, C. D., Hecht, F. M., y Deeks, S. G. (2013). Antiretroviral Therapy Initiated Within 6 Months of HIV Infection Is Associated With Lower T-Cell Activation and Smaller HIV Reservoir Size. *Journal of Infectious Diseases*, 208(8), 1202-1211. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit311>
- Joly, V., Fagard, C., Grondin, C., Descamps, D., Yazdanpanah, Y., Charpentier, C., Colin De Verdiere, N., Tabuteau, S., Raffi, F., Cabie, A., Chene, G., y Yeni, P. (2013). Intensification of Antiretroviral Therapy through Addition of Enfuvirtide in Naive HIV-1-Infected Patients with Severe Immunosuppression Does Not Improve Immunological Response: Results of a Randomized Multicenter Trial (ANRS 130 Apollo). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(2), 758–765. <https://doi.org/10.1128/AAC.01662-12>
- Julg, B., Poole, D., Ghebremichael, M., Castilla, C., Altfeld, M., Sunpath, H., Murphy, R. A., y Walker, B. D. (2012). Factors predicting discordant virological and immunological responses to antiretroviral therapy in HIV-1 clade C infected

zulu/xhosa in South Africa. *PLoS ONE*, 7(2), 10-13.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031161>

K L, Slayter; J, Singer; TC, Lee; H, K. W. S. (2013). Immunization against pneumococcal disease in HIV-infected patients: conjugate versus polysaccharide vaccine before or after reconstitution of the immune system (CTN-147). *International Journal of STD & AIDS*, 24, 227-231.

<https://doi.org/10.1177/0956462412472450>

Kaufmann, G. R. (2005). Characteristics, determinants, and clinical relevance of CD4 T cell recovery to <500 Cells/mL in HIV Type 1–Infected Individuals Receiving Potent Antiretroviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 41(3), 361-372.

<https://doi.org/10.1086/431484>

Kaufmann, G. R., Furrer, H., Ledergerber, B., Perrin, L., Opravil, M., Vernazza, P., Cavassini, M., Bernasconi, E., Rickenbach, M., Hirschel, B., y Battegay, M. (2005). Characteristics, Determinants, and Clinical Relevance of CD4 T Cell Recovery to <500 Cells/ L in HIV Type 1--Infected Individuals Receiving Potent Antiretroviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 41(3), 361-372.

<https://doi.org/10.1086/431484>

Kaufmann, G. R., Furrer, H., Ledergerber, B., Perrin, L., Opravil, M., Vernazza, P., Cavassini, M., Bernasconi, E., Rickenbach, M., Hirschel, B., Battegay, M., y Hiv, S. (2005). Characteristics, Determinants, and Clinical Relevance of CD4 T Cell Recovery to 500 Cells/mL in HIV Type 1-Infected Individuals Receiving Potent Antiretroviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 41, 361-371.

<https://doi.org/10.7892/boris.25710>

Kaur, R., Bedimo, R., Kvanli, M. B., Turner, D., Shaw, L., y Margolis, D. (2006). A placebo-controlled pilot study of intensification of antiretroviral therapy with mycophenolate mofetil. *AIDS Research and Therapy*.

<https://doi.org/10.1186/1742-6405-3-16>

Kelly, C., Gaskell, K. M., Richardson, M., Klein, N., Garner, P., y MacPherson, P. (2016). Discordant immune response with antiretroviral therapy in HIV-1: A systematic review of clinical outcomes. *PLoS ONE*, 11(6), 1-21.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156099>

Khawcharoenporn, T., Apisarnthanarak, A., Phetsuksiri, B., Rudeeaneksin, J.,

Srisungngam, S., y Mundy, L. M. (2015). Tuberculin skin test and QuantiFERON-TB Gold In-tube Test for latent tuberculosis in Thai HIV-infected adults. *Respirology*, 20(2), 340-347. <https://doi.org/10.1111/resp.12442>

Kolte, L., Gaardbo, J. C., Skogstrand, K., Ryder, L. P., Ersbøll, A. K., y Nielsen, S. D. (2009). Increased levels of regulatory T cells (Tregs) in human immunodeficiency virus-infected patients after 5 years of highly active anti-retroviral therapy may be due to increased thymic production of naive Tregs. *Clinical and Experimental Immunology*, 155(1), 44-52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03803.x>

Kolte, L., Ryder, L. P., Albrecht-Beste, E., Jensen, F. K., y Nielsen, S. D. (2009). HIV-infected patients with a large thymus maintain higher CD4 counts in a 5-year follow-up study of patients treated with highly active antiretroviral therapy. *Scandinavian Journal of Immunology*, 70(6), 608-613. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02328.x>

Kussen, G. M. B., Dalla-Costa, L. M., Rossoni, A., y Raboni, S. M. (2016). Interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for latent tuberculosis infection among HIV patients in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 20(1), 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.10.007>

Lafeuillade, A., Assi, A., Poggi, C., Bresson-Cuquemelle, C., Jullian, E., y Tamalet, C. (2014). Failure of combined antiretroviral therapy intensification with maraviroc and raltegravir in chronically HIV-1 infected patients to reduce the viral reservoir: the IntensHIV randomized trial. *AIDS Research and Therapy*, 11(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1742-6405-11-33>

Lapadula, G., Chatenoud, L., Gori, A., Castelli, F., Di Giambenedetto, S., Fabbiani, M., Maggiolo, F., Focà, E., Ladisa, N., Sighinolfi, L., Di Pietro, M., Pan, A., Torti, C., Carosi, G., Quiros, E., Nasta, P., Paraninfo, G., Cauda, R., Colafigli, M., ... Borderi, M. (2015). Risk of severe non AIDS events is increased among patients unable to increase their CD4 + T-cell counts >200+/ $\mu$ l despite effective HAART. *PLoS ONE*, 10(5), e0124741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124741>

Lapadula, G., Cozzi-Lepri, A., Marchetti, G., Antinori, A., Chiodera, A., Nicastri, E., Galli, M., Gori, A., y Monforte, A. D. A. (2013). Risk of clinical progression among patients with immunological nonresponse despite virological suppression after

- combination antiretroviral treatment. *AIDS*, 27(5), 769-779.  
<https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835cb747>
- Le, T., Wright, E. J., Smith, D. M., He, W., Catano, G., Okulicz, J. F., Young, J. A., Clark, R. A., Richman, D. D., Little, S. J., y Ahuja, S. K. (2013). Enhanced CD4+ T-Cell Recovery with Earlier HIV-1 Antiretroviral Therapy. *New England Journal of Medicine*, 368(3), 218-230. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1110187>
- Lederman, M. M., Calabrese, L., Funderburg, N. T., Clagett, B., Medvik, K., Bonilla, H., Gripshover, B., Salata, R. A., Taege, A., Lisgaris, M., McComsey, G. A., Kirchner, E., Baum, J., Shive, C., Asaad, R., Kalayjian, R. C., Sieg, S. F., y Rodriguez, B. (2011). Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *Journal of Infectious Diseases*, 204(8), 1217-1226. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir507>
- Lee, E., Bacchetti, P., Milush, J., Shao, W., Boritz, E., Douek, D., Fromentin, R., Liegler, T., Hoh, R., Deeks, S. G., Hecht, F. M., Chomont, N., y Palmer, S. (2019). Memory CD4+ T-Cells Expressing HLA-DR Contribute to HIV Persistence During Prolonged Antiretroviral Therapy. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02214>
- Lee, E., von Stockenström, S., Morcilla, V., Odevall, L., Hiener, B., Shao, W., Hartogensis, W., Bacchetti, P., Milush, J., Liegler, T., Hatano, H., Hoh, R., Somsouk, M., Hunt, P., Boritz, E., Fromentin, R., Chomont, N., Deeks, S. G., y Hecht, F. M. (2020). The impact of antiretroviral therapy duration on the HIV-1 infection of T-cells within anatomic sites. *Journal of Virology*, 94(3), e01270-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01270-19>
- Lee, S. S., Wong, N. S., Wong, B. C. K., Wong, K. H., y Chan, K. C. W. (2017). Combining CD4 recovery and CD4: CD8 ratio restoration as an indicator for evaluating the outcome of continued antiretroviral therapy: An observational cohort study. *BMJ Open*, 7(9), e016886. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-016886>
- Leung, C. C., Chan, K., Yam, W. C., Lee, M. P., Chan, C. K., Wong, K. H., Ho, P. L., Mak, I., y Tam, C. M. (2016). Poor agreement between diagnostic tests for latent tuberculosis infection among HIV-infected persons in Hong Kong. *Respirology*, 21(7), 1322-1329. <https://doi.org/10.1111/resp.12805>

- Leung, V., Gillis, J., Raboud, J., Cooper, C., Hogg, R. S., Loutfy, M. R., Machouf, N., Montaner, J. S., Rourke, S. B., Tsoukas, C., Klein, M. B., y CANOC Collaboration. (2013). Predictors of CD4:CD8 ratio normalization and its effect on health outcomes in the era of combination antiretroviral therapy. *PloS one*, 8(10), e77665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077665>
- Lévy, Y., Lelièvre, J.-D., Assoumou, L., Aznar, E., Pulido, F., Tambussi, G., Crespo, M., Meybeck, A., Molina, J.-M., Delaugerre, C., Izopet, J., Peytavin, G., Cardon, F., Diallo, A., Lancar, R., Béniguel, L., y Costagliola, D. (2020). Addition of Maraviroc Versus Placebo to Standard Antiretroviral Therapy for Initial Treatment of Advanced HIV Infection. *Annals of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.7326/m19-2133>
- Lewis JE, SE, A., MH, A., A, R., A, F., LA, L., F, M., S, G., LC1, L., OL1, H., A1, F., E1, T., JM3, W., S3, C., A3, M., A3, R., y J4, K. (2019). The Novel Effects of a Hydrolyzed Polysaccharide Dietary Supplement on Immune, Hepatic, and Renal Function in Adults with HIV in a Randomized, Double-Blind, Placebo-Control Trial. *J Diet Suppl*, 17(4), 429-441.
- Lichtfuss, G. F., Cheng, W.-J., Farsakoglu, Y., Paukovics, G., Rajasuriar, R., Velayudham, P., Kramski, M., Hearps, A. C., Cameron, P. U., Lewin, S. R., Crowe, S. M., y Jaworowski, A. (2012). Virologically Suppressed HIV Patients Show Activation of NK Cells and Persistent Innate Immune Activation. *The Journal of Immunology*, 189(3), 1491-1499. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1200458>
- Lichtner, M., Cicconi, P., Vita, S., Cozzi-Lepri, A., Galli, M., Lo Caputo, S., Saracino, A., De Luca, A., Moioli, M., Maggiolo, F., Marchetti, G., Vullo, V., y Monforte, A. D. A. (2015). Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. *Journal of Infectious Diseases*, 211(2), 178-186. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu417>
- López-Huertas, M. R., Jiménez-Tormo, L., Madrid-Elena, N., Gutiérrez, C., Rodríguez-Mora, S., Coiras, M., Alcamí, J., y Moreno, S. (2017). The CCR5-Antagonist Maraviroc reverses HIV-1 latency in vitro alone or in combination with the PKC-Agonist Bryostatín-1. *Scientific Reports*, 7(1), 2385.

<https://doi.org/10.1038/s41598-017-02634-y>

Loutfy, M. R., Genebat, M., Moore, D., Raboud, J., Chan, K., Antoniou, T., Milan, D., Shen, A., Klein, M. B., Cooper, C., MacHouf, N., Rourke, S. B., Rachlis, A., Tsoukas, C., Montaner, J. S. G., Walmsley, S. L., Smieja, M., Bayoumi, A., Mills, E., y Hogg, R. S. (2010). A CD4+ cell count <200 cells per cubic millimeter at 2 years after initiation of combination antiretroviral therapy is associated with increased mortality in hiv-infected individuals with viral suppression. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 55(4), 451-459.

<https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181ec28ff>

Luo, Z., Li, Z., Martin, L., Wan, Z., Meissner, E. G., Espinosa, E., Wu, H., Yu, X., Fu, P., Anna, M., Westerink, J., Kilby, J. M., Wu, J., Huang, L., Heath, S. L., Li, Z., y Jiang, W. (2017). Pathological Role of Anti-CD4 Antibodies in HIV-Infected Immunologic Nonresponders Receiving Virus-Suppressive Antiretroviral Therapy. *The Journal of Infectious Diseases* ®, 82, 82-91.

<https://doi.org/10.1093/infdis/jix223>

Luo, Z., Zhou, Z., Ogunrinde, E., Zhang, T., Li, Z., Martin, L., Wan, Z., Wu, H., Qin, Z., Ou, T., Zhang, J., Ma, L., Liao, G., Heath, S., Huang, L., y Jiang, W. (2017). The effect of plasma auto-IgGs on CD4 + T cell apoptosis and recovery in HIV-infected patients under antiretroviral therapy. *Journal of Leukocyte Biology*, 102(6), 1481-1486. <https://doi.org/10.1189/jlb.5a0617-219r>

Maidji, E., Somsouk, M., Rivera, J. M., Hunt, P. W., y Stoddart, C. A. (2017).

Replication of CMV in the gut of HIV-infected individuals and epithelial barrier dysfunction. *PLoS Pathogens*, 13(2), e1006202.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006202>

Marchetti, G., Meroni, L., Varchetta, S., Terzieva, V., Bandera, A., Manganaro, D., Molteni, C., Trabattoni, D., Fossati, S., Clerici, M., Galli, M., Moroni, M., Franzetti, F., y Gori, A. (2002). Low-Dose Prolonged Intermittent Interleukin-2 Adjuvant Therapy: Results of a Randomized Trial among Human Immunodeficiency Virus–Positive Patients with Advanced Immune Impairment. En *The Journal of Infectious Diseases* (Vol. 186).

<https://academic.oup.com/jid/article-abstract/186/5/606/2191098>

Marone, G., Varricchi, G., Loffredo, S., Galdiero, M. R., Rivellese, F., y De Paulis, A.

(2016). Are Basophils and Mast Cells Masters in HIV Infection? *Int Arch Allergy Immunol*, 171, 158-165. <https://doi.org/10.1159/000452889>

Marras, F., Nicco, E., Bozzano, F., Di Biagio, A., Dentone, C., Pontali, E., Boni, S., Setti, M., Orofino, G., Mantia, E., Bartolacci, V., Bisio, F., Riva, A., Biassoni, R., Moretta, L., y De Maria, A. (2013). Natural killer cells in HIV controller patients express an activated effector phenotype and do not up-regulate NKp44 on IL-2 stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(29), 11970-11975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302090110>

Marziali, M., De Santis, W., Carello, R., Leti, W., Esposito, A., Isgrò, A., Fimiani, C., Sirianni, M. C., Mezzaroma, I., y Aiuti, F. (2006). T-cell homeostasis alteration in HIV-1 infected subjects with low CD4 T-cell count despite undetectable virus load during HAART. *AIDS*, 20(16), 2033-2041. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000247588.69438.fd>

Masiá, M., Padilla, S., Barber, X., Sanchis, M., Terol, G., Lidón, F., y Gutiérrez, F. (2016). Comparative Impact of Suppressive Antiretroviral Regimens on the CD4/CD8 T-Cell Ratio A Cohort Study. *Medicine*, 95(11), e3108. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000003108>

Massanella, M., Gómez-Mora, E., Carrillo, J., Curriu, M., Ouchi, D., Puig, J., Negrodo, E., Cabrera, C., Clotet, B., y Blanco, J. (2015). Increased ex vivo cell death of central memory CD4 T cells in treated HIV infected individuals with unsatisfactory immune recovery. *Journal of Translational Medicine*, 13(320). <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0601-2>

Massanella, M., Negrodo, E., Clotet, B., y Blanco, J. (2013). Immunodiscordant responses to HAART-mechanisms and consequences. *Expert Review of Clinical Immunology*, 9(11), 1135-1149. <https://doi.org/10.1586/1744666X.2013.842897>

Massanella, M., Negrodo, E., Puig, J., Puertas, M. C., Buzón, M. J., Pérez-Álvarez, N., Carrillo, J., Clotet, B., Martínez-Picado, J., y Blanco, J. (2012). Raltegravir intensification shows differing effects on CD8 and CD4 T cells in HIV-infected HAART-suppressed individuals with poor CD4 T-cell recovery. *AIDS*, 26(18), 2285-2293. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328359f20f>

- Mastroianni, C. M., D'ettore, G., Forcina, G., Lichtner, M., Mengoni, F., Agostino, C. D. ', Corpolongo, A., Massetti, A. P., y Vullo, V. (2000). Interleukin-15 enhances neutrophil functional activity in patients with human immunodeficiency virus infection. *Blood*, 96(5), 1979-1984. <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/96/5/1979/1667306/h8170001979.pdf>
- Matthew, J. P., Agosto, L., Graf, E. H., y O'Doherty, U. (2011). HIV Reservoirs and Latency Models Matthew. *Virology*, 411(2), 344-354. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- May, M. T., Gompels, M., Delpech, V., Porter, K., Orkin, C., Keggs, S., Hay, P., Johnson, M., Palfreeman, A., Gilson, R., Chadwick, D., Martin, F., Hill, T., Walsh, J., Post, F., Fisher, M., Ainsworth, J., Jose, S., Leen, C., ... Glabay, A. (2014). Impact on life expectancy of HIV-1 positive individuals of CD4R cell count and viral load response to antiretroviral therapy. *AIDS*, 28(8), 1193-1202. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000243>
- McCutchan, J. A., Wu, J. W., Robertson, K., Koletar, S. L., Ellis, R. J., Cohn, S., Taylor, M., Woods, S., Heaton, R., Currier, J., y Williams, P. L. (2007). HIV suppression by HAART preserves cognitive function in advanced, immune-reconstituted AIDS patients. *AIDS*, 21(9), 1109-1117. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3280ef6acd>
- Méndez-Lagares, G., García-Pergañeda, A., del Pozo-Balado, M. del M., Genebat, M., Ruiz-Mateos, E., García, M. G., Muñoz-Fernandez, M. A., Pacheco, Y. M., y Leal, M. (2012). Differential alterations of the CD4 and CD8 T cell subsets in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy with low CD4 t cell restoration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(5), 1228-1237. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr594>
- Miller, M. F., Haley, C., Koziel, M. J., y Rowley, C. F. (2005). Impact of Hepatitis C Virus on Immune Restoration in HIV-Infected Patients Who Start Highly Active Antiretroviral Therapy: A Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. *Clinical Infectious Diseases*, 41(5), 713-720. <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/41/5/713/331304>
- Ministerio de Sanidad. (2019). *Vigilancia epidemiológica de las infecciones de transmisión sexual en España 2017*. <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd->

servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/fd-sida/pdf\_sida/Vigilancia\_ITS\_1995\_2017\_def.pdf

Moir, S., y Fauci, A. S. (2008). Pathogenic mechanisms of B-lymphocyte dysfunction in HIV disease. *J Allergy Clin Immunol*, 122(1), 12-21.

<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.04.034>. Pathogenic

Moir, S., y Fauci, A. S. (2009). B cells in HIV infection and disease. *Nat Rev Immunol*, 9(4), 235-245. <https://doi.org/10.1038/nri2524>

Molina-Pinelo, S, Leal, M., Soriano-Sarabia, N., Gutiérrez, S., Fernandez, G., Muñoz-Fernández, M. Á., Lissen, E., y Vallejo, A. (2005). Prevalence and factors involved in discordant responses to highly active antiretroviral treatment in a closely followed cohort of treatment-naïve HIV-infected patients. *Journal of Clinical Virology*, 33(2), 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.09.030>

Molina-Pinelo, Sonia, Vallejo, A., Díaz, L., Soriano-Sarabia, N., Ferrando-Martínez, S., Resino, S., Muñoz-Fernández, M. Á., y Leal, M. (2009). Premature immunosenescence in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy with low-level CD4 T cell repopulation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(3), 579-588. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp248>

Moore, Hogg, R. S., Yip, B., Wood, E., Tyndall, M., Braitstein, P., y Montaner, J. S. G. (2005). Discordant immunologic and virologic responses to highly antiretroviral therapy are associated with increased mortality and poor adherence to therapy. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 40(3), 288-293.

Moore, R. D., Gebo, K. A., Lucas, G. M., y Keruly, J. C. (2008). Rate of comorbidities not related to HIV infection or AIDS among HIV-infected patients, by CD4 cell count and HAART use status. *Clinical Infectious Diseases*, 47(8), 1102-1104. <https://doi.org/10.1086/592115>

Moore, R. D., y Keruly, J. C. (2007). CD4 + Cell Count 6 Years after Commencement of Highly Active Antiretroviral Therapy in Persons with Sustained Virologic Suppression. *Clinical Infectious Diseases*, 44(3), 441-446. <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/44/3/441/314916>

Murray, S. M., Down, C. M., Boulware, D. R., Stauffer, W. M., Cavert, W. P.,

- Schacker, T. W., Brenchley, J. M., y Douek, D. C. (2010). Reduction of Immune Activation with Chloroquine Therapy during Chronic HIV Infection. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 84(22), 12082-12086. <https://doi.org/10.1128/JVI.01466-10>
- Mussini, C., Lorenzini, P., Cozzi-Lepri, A., Lapadula, G., Marchetti, G., Nicastri, E., Cingolani, A., Lichtner, M., Antinori, A., Gori, A., y D'arminio, A. (2015). Articles CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *The Lancet HIV*, 2(3), e98-e106. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(15\)00006-5](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(15)00006-5)
- Nabatanzi, R., Cose, S., Joloba, M., Jones, S. R., y Nakanjako, D. (2018). Effects of HIV infection and ART on phenotype and function of circulating monocytes, natural killer, and innate lymphoid cells. *AIDS Research and Therapy*, 15(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12981-018-0194-y>
- Nakanjako, D., Kiragga, A., Ibrahim, F., Castelnuovo, B., Kanya, M. R., y Easterbrook, P. J. (2008). Sub-optimal CD4 reconstitution despite viral suppression in an urban cohort on Antiretroviral Therapy (ART) in sub-Saharan Africa: Frequency and clinical significance. *AIDS Research and Therapy*, 5(33), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1742-6405-5-23>
- Nakanjako, D., Otit-Sengeri, J., Ssewanyana, I., Nabatanzi, R., Bayigga, L., Kirimunda, S., Joloba, M., Manabe, Y. C., Kambugu, A., Colebunders, R., y Mayanja-Kizza, H. (2014). CD4 T-cell activation and reduced regulatory T-cell populations are associated with early development of cataracts among HIV-infected adults in Uganda. *Immunol Lett*, 161(1). <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.04.011>
- Nakanjako, D., Ssewanyana, I., Mayanja-Kizza, H., Kiragga, A., Colebunders, R., Manabe, Y. C., Nabatanzi, R., Kanya, M. R., y Cao, H. (2011). High T-cell immune activation and immune exhaustion among individuals with suboptimal CD4 recovery after 4 years of antiretroviral therapy in an African cohort. *BMC Infectious Diseases*, 11(43), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-11-43>
- Nakanjako, D., Ssinabulya, I., Nabatanzi, R., Bayigga, L., Kiragga, A., Joloba, M., Kaleebu, P., Kambugu, A. D., Kanya, M. R., Sekaly, R., Elliott, A., y Mayanja-Kizza, H. (2015). Atorvastatin reduces T-cell activation and exhaustion among

HIV-infected cART-treated suboptimal immune responders in Uganda: a randomised crossover placebo-controlled trial Europe PMC Funders Group. *Trop Med Int Health*, 20(3), 380-390. <https://doi.org/10.1111/tmi.12442>

Napolitano, L. A., Schmidt, D., Gotway, M. B., Ameli, N., Filbert, E. L., Ng, M. M., Clor, J. L., Epling, L., Sinclair, E., Baum, P. D., Li, K., Killian, M. L., Bacchetti, P., y Mccune, J. M. (2008). Growth hormone enhances thymic function in HIV-1-infected adults. *The Journal of Clin*, 118(3), 1085-1098. <https://doi.org/10.1172/JCI32830DS1>

Negredo, E., Massanella, M., Puig, J., Pérez-Álvarez, N., Gallego-Escuredo, J. M., Villarroya, J., Villarroya, F., Moltó, J., Santos, J. R., Clotet, B., y Blanco, J. (2010). Nadir CD4 T Cell Count as Predictor and High CD4 T Cell Intrinsic Apoptosis as Final Mechanism of Poor CD4 T Cell Recovery in Virologically Suppressed HIV-Infected Patients: Clinical Implications. *Clinical Infectious Diseases*, 50(9), 1300-1308. <https://doi.org/10.1086/651689>

Negredo, Eugènia, Massanella, M., Puertas, M. C., Buzón, M. J., Puig, J., Pérez-Álvarez, N., Pérez-Santiago, J., Bonjoch, A., Moltó, J., Jou, A., Echeverría, P., Llibre, J. M., Martínez-Picado, J., Clotet, B., y Blanco, J. (2013). Early but limited effects of raltegravir intensification on CD4 T cell reconstitution in HIV-infected patients with an immunodiscordant response to antiretroviral therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(10), 2358-2362. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt183>

Nicastri, E., Chiesi, A., Angeletti, C., Sarmati, L., Palmisano, L., Geraci, A., Andreoni, M., y Vella, S. (2005). Clinical outcome after 4 years follow-up of HIV-seropositive subjects with incomplete virologic or immunologic response to HAART. *Journal of Medical Virology*, 76(2), 153-160. <https://doi.org/10.1002/jmv.20352>

Nicolás, D., Esteve, A., Cuadros, A., Campbell, C. N. ., Tural, C., Podzamczer, D., Murillas, J., Homar, F., Segura, F., Force, L., Vilaró, J., Masabeu, À., Garcia, I., Mercadal, J., Montoliu, A., Ferrer, E., Riera, M., Cifuentes, C., Ambrosioni, J., ... Miró, J. M. (2016). Safe Reduction in CD4 Cell Count Monitoring in Stable, Virologically Suppressed Patients with HIV Infection or HIV/Hepatitis C Virus Coinfection. *Clinical Infectious Diseases*, 62(12), 1578-1585.

<https://doi.org/10.1093/cid/ciw157>

- Onwumeh, J., Okwundu, C. I., y Kredo, T. (2017). Interleukin-2 as an adjunct to antiretroviral therapy for HIV-positive adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5(5), CD009818. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009818.pub2>
- Pacheco, Y., Jarrin, I., Amo, J., Moreno, S., Iribarren, J., Viciano, P., Parra, J., Gomez-Sirvent, J., Gutierrez, F., Blanco, J., Vidal, F., y Leal, M. (2009). Risk Factors, CD4 Long-Term Evolution and Mortality of HIV-Infected Patients who Persistently Maintain Low CD4 Counts, Despite Virological Response to HAART. *Current HIV Research*, 7(6), 612-619. <https://doi.org/10.2174/157016209789973673>
- Pacheco, Y. M., Jarrin, I., Rosado, I., Campins, A. A., Berenguer, J., Iribarren, J. A., Rivero, M., Muñoz-Medina, L., Bernal-Morell, E., Gutiérrez, F., y Leal, M. (2015). Increased risk of non-AIDS-related events in HIV subjects with persistent low CD4 counts despite cART in the CoRIS cohort. *Antiviral Research*, 117, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.03.002>
- Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. (2019). *Documento de consenso GeSIDa/ plan nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana 2019*.
- Pantazis, N., Papastamopoulos, V., Pappas, V., Metallidis, S., Adamis, G., Antoniadou, A., Psychogiou, M., Chini, M., Sambatakou, H., Sipsas, N. V., Gogos, C., Chryso, G., Panagopoulos, P., Katsarou, O., Gikas, A., y Touloumi, G. (2019). Long-term evolution of CD4+ cell count in patients under combined antiretroviral therapy. *AIDS*, 33(10), 1645-1655. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002248>
- Parato, K. G., Kumar, A., Badley, A. D., Sanchez-Dardon, J. L., Chambers, K. A., Young, C. D., Lim, W. T., Kravcik, S., Cameron, D. W., y Angel, J. B. (2002). Normalization of natural killer cell function and phenotype with effective anti-HIV therapy and the role of IL-10. *AIDS*, 16(9), 1251-1256. <https://doi.org/10.1097/00002030-200206140-00007>
- Parrella, R., Esposito, V., Onofrio, M., Parrella, G., Viglietti, R., Sangiovanni, V., Gargiulo, M., Di Martino, F., Del Giudice, A., Santoro, G., Bernardo, M., Carleo,

M. A., y Chirianni, A. (2015). Interferon gamma release assays and tuberculin skin test performance in different settings of HIV immunodeficiency. *In Vivo*, 29(1), 137-140.

Piconi, S., Parisotto, S., Rizzardini, G., Passerini, S., Terzi, R., Argentero, B., Meraviglia, P., Capetti, A., Biasin, M., Trabattoni, D., Clerici, M., y Don Gnocchi, F. (2011). Hydroxychloroquine drastically reduces immune activation in HIV-infected, antiretroviral therapy-treated immunologic nonresponders. *Blood*, 118(12), 3263-3272. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-329060>

Piketty, C., Castiel, P., Belec, L., Batisse, D., Mohamed, A., Gilquin, J., González-Canali, G., Jayle, D., Karmochkine, M., Weiss, L., Aboulker, J., y Kazatchkine, M. (1998). Discrepant responses to triple combination antiretroviral therapy in advanced HIV disease. *AIDS*, 12(7), 745-750.  
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed4&NEWS=N&AN=1998139118>

Piketty, Christophe, Weiss, L., Thomas, F., Mohamed, A. S., Belec, L., y Kazatchkine, M. D. (2000). Long-Term Clinical Outcome of Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Discordant Immunologic and Virologic Responses to a Protease Inhibitor-Containing Regimen. En *The Journal of Infectious Diseases* (Vol. 183). <https://academic.oup.com/jid/article-abstract/183/9/1328/930331>

Pitrak, D. L., Bolaños, J., Hershov, R., y Novak, R. M. (2001). Discordant CD4 T lymphocyte responses to antiretroviral therapy for HIV infection are associated with ex-vivo rates of apoptosis. *AIDS*, 15(10), 1317-1319.  
<https://doi.org/10.1097/00002030-200107060-00018>

Podzamczar, D., Miró Meda, J. M., Mallolas Masferrer, J., y Clotet Sala, B. (2021). *Guía práctica del SIDA* (D. Podzamczar, J. M. Miró Meda, J. Mallolas Masferrer, y B. Clotet Sala (eds.); 16.<sup>a</sup> ed.). Editorial Antares.

Potter, M., Oduyungbo, A., Yang, H., Saeed, S., y Klein, M. B. (2010). Impact of hepatitis C viral replication on CD4 + T-lymphocyte progression in HIV-HCV coinfection before and after antiretroviral therapy. *AIDS*, 24(12), 1857-1865.  
<https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833adbb5>

- Prabhakar, B., Banu, A., Pavithra, H., Chandrashekhara, P., y Sasthri, S. (2011a). Immunological failure despite virological suppression in HIV seropositive individuals on antiretroviral therapy. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases*, 32(2), 94-98. <https://doi.org/10.4103/0253-7184.85412>
- Prabhakar, B., Banu, A., Pavithra, H., Chandrashekhara, P., y Sasthri, S. (2011b). Immunological failure despite virological suppression in HIV seropositive individuals on antiretroviral therapy. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases*, 32(2), 94-98.
- Quillay, H., El Costa, H., Duriez, M., Marlin, R., Cannou, C., Madec, Y., De Truchis, C., Rahmati, M., Barré-Sinoussi, F., Nugeyre, M. T., y Menu, E. (2016). NK cells control HIV-1 infection of macrophages through soluble factors and cellular contacts in the human decidua. *Retrovirology*, 13, 39. <https://doi.org/10.1186/s12977-016-0271-z>
- Rallón, N., Sempere-Ortells, J. M., Soriano, V., y Benito, J. M. (2013). Central memory CD4 T cells are associated with incomplete restoration of the CD4 T cell pool after treatment-induced long-term undetectable HIV viraemia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(11), 2616-2625. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt245>
- Ramos, J. M., Robledano, C., Masiá, M., Belda, S., Padilla, S., Rodríguez, J. C., y Gutierrez, F. (2012). Contribution of Interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB Gold In Tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. *BMC Infectious Diseases*, 12(169). <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-169>
- Rb-Silva, R., Nobrega, C., Azevedo, C., Athayde, E., Canto-Gomes, J., Ferreira, I., Cheynier, R., Yates, A. J., Horta, A., y Correia-Neves, M. (2019). Thymic fuction as a predictor of immune recovery in chronically HIV-infected patients initiating antiretreoviral therapy. *Frontiers in Immunology*, 10(FEB), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00025>
- Renaud, M., Katlama, C., Tubiana, R., Jouan, M., Caumes, E., Bricaire, F., Mallet, A., Agut, H., Calvez, V., Autran, B., Carcelain, G., y Debré, P. (1999). Determinants of paradoxical CD4 cell reconstitution after protease inhibitor-containing

antiretroviral regimen. *AIDS*, 13(6), 669-676. <https://doi.org/10.1097/00002030-199904160-00007>

Rizzardi, G. P., Vaccarezza, M., Capiluppi, B., Tambussi, G., Lazzarin, A., y Pantaleo, G. (2000). Cyclosporin A in combination with HAART in primary HIV-1 infection. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 14(1), 79-81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10763900>

Robbins, G. K., Spritzler, J. G., Chan, E. S., Asmuth, D. M., Gandhi, R. T., Rodriguez, B. A., Skowron, G., Skolnik, P. R., Shafer, R. W., y Pollard, R. B. (2009). Incomplete reconstitution of T cell subsets on combination antiretroviral therapy in the AIDS Clinical Trials Group Protocol 384. *Clinical Infectious Diseases*, 48(3), 350-361. <https://doi.org/10.1086/595888>

Robert, S., Yu, L., Dana, V., y Sroussi, H. Y. (2010). Effect of Human Immunodeficiency Virus Infection on S100A8/A9 Inhibition of Peripheral Neutrophils Oxidative Metabolism. *Biomed Pharmacother*, 64(8), 572–575. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2010.03.005>

Rosado-Sánchez, I., Herrero-Fernández, I., Álvarez-Ríos, A. I., Genebat, M., Abad-Carrillo, M. A., Ruiz-Mateos, E., Pulido, F., González-García, J., Montero, M., Bernal-Morell, E., Vidal, F., Leal, M., y Pacheco, Y. M. (2017). A lower baseline CD4/CD8 T-cell ratio is independently associated with immunodiscordant response to antiretroviral therapy in HIV-infected subjects. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(8), e00605-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00605-17>

Rosado-Sánchez, I., Herrero-Fernández, I., Genebat, M., Ruiz-Mateos, E., Leal, M., y Pacheco, Y. (2016). Thymic function impacts the peripheral CD4/CD8 ratio of HIV-infected subjects. *Clinical Infectious Diseases*, 64(2), 152-158.

Rosado-Sánchez, I., Herrero-Fernández, I., Tarancon-Diez, L., Moreno, S., Iribarren, J., Dalmau, D., Vera-Méndez, F., Leal, M., y Pacheco, Y. M. (2018). Increased frequencies of Th17 cells and IL17a-producing regulatory T-cells preceding the immunodiscordant response to antiretroviral treatment. *Journal of Infection*, 76(1), 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2017.10.010>

Roul, H., Mary-Krause, M., Ghosn, J., Delaugerre, C., Pialoux, G., Cuzin, L., Launay, O., Lacombe, J. M., Menard, A., De Truchis, P., Delfraissy, J. F., Weiss, L., y

- Costagliola, D. (2018). CD4+ cell count recovery after combined antiretroviral therapy in the modern combined antiretroviral therapy era. *AIDS*, 32(17), 2605-2614. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002010>
- Ruan, Q., Zhang, S., Ai, J., Shao, L., y Zhang, W. (2016). Screening of latent tuberculosis infection by interferon- $\gamma$  release assays in rheumatic patients: a systemic review and meta-analysis. *Clinical Rheumatology*, 35(2), 417-425. <https://doi.org/10.1007/s10067-014-2817-6>
- Rudy, B. J., Kapogiannis, B. G., Worrell, C., Squires, K., Bethel, J., Li, S., Wilson, C. M., Agwu, A., Emmanuel, P., Price, G., Hudey, S., Goodenow, M. M., y Sleasman, J. W. (2015). Immune reconstitution but persistent activation after 48 weeks of antiretroviral therapy in youth with pre-therapy CD4 >350 in ATN 061. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 69(1), 52-60. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000549>
- Ruiz-Mateos, E., De la Rosa, R., Soriano, N., Martinez-Moya, M., Rubio, A., Sánchez-Quijano, A., Lissen, E., y Leal, M. (2003). Comparison of thymic function-related markers to predict early CD4 T-cell repopulation in adult HIV-infected patients on HAART. *Antiviral Therapy*, 8(4), 289-294.
- Ruiz-Mateos, E., Rubio, A., Vallejo, A., De la Rosa, R., Sanchez-Quijano, A., Lissen, E., y Leal, M. (2004). Thymic volume is associated independently with the magnitude of short-and long-term repopulation of CD4 + T cells in HIV-infected adults after highly active antiretroviral therapy (HAART) 1. *Clin Exp Immunol*, 136(3), 501-506. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02474.x>
- Rusconi, S., Vitiello, P., Adorni, F., Colella, E., Focà, E., Capetti, A., Meraviglia, P., Abeli, C., Bonora, S., Di Biagio, A., Di Pietro, M., Butini, L., Orofino, G., Colafigli, M., Francisci, D., Parruti, G., Soria, A., Rita Buonomini, A., Tommasi, C., ... Marchetti, G. (2013). Maraviroc as Intensification Strategy in HIV-1 Positive Patients with Deficient Immunological Response: an Italian Randomized Clinical Trial. *PLoS ONE*, 8(11), e80157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080157>
- Saison, J., Ferry, T., Demaret, J., Maucort Boulch, D., Venet, F., Perpoint, T., Ader, F., Icard, V., Chidiac, C., Monneret, G., Peyramond, D., Cotte, L., Miallhes, P., Biron, F., Boibieux, A., Braun, E., Champagne, H., Daoud, F., Gueripel, V., ... Malcus, C. (2014). Association between discordant immunological response to

highly active anti-retroviral therapy, regulatory T cell percentage, immune cell activation and very low-level viraemia in HIV-infected patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 176(3), 401-409. <https://doi.org/10.1111/cei.12278>

Saracino, A., Bruno, G., Scudeller, L., Volpe, A., Caricato, P., Ladisa, N., Monno, L., y Angarano, G. (2014). Chronic inflammation in a long-term cohort of hiv-infected patients according to the normalization of the CD4:CD8 ratio. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 30(12), 1178-1184. <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0080>

Sauce, D., Larsen, M., Ne Fastenackels, S., Le Pauchard, M., Ait-Mohand, H., Schneider, L., Lie Guihot, A., Boufassa, F., Zaunders, J., Iguertsira, M., Bailey, M., Gorochov, G., Duvivier, C., Carcelain, G., Kelleher, A. D., Simon, A., Meyer, L., Costagliola, D., Deeks, S. G., ... Appay, V. (2011a). HIV disease progression despite suppression of viral replication is associated with exhaustion of lymphopoiesis. *Immunobiology*, 117(19), 5142-5151. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01>

Sauce, D., Larsen, M., Ne Fastenackels, S., Le Pauchard, M., Ait-Mohand, H., Schneider, L., Lie Guihot, A., Boufassa, F., Zaunders, J., Iguertsira, M., Bailey, M., Gorochov, G., Duvivier, C., Carcelain, G., Kelleher, A. D., Simon, A., Meyer, L., Costagliola, D., Deeks, S. G., ... Appay, V. (2011b). HIV disease progression despite suppression of viral replication is associated with exhaustion of lymphopoiesis. *Blood*, 117(19), 5142-5151. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01>

Savarino, A., y Shytaj, I. L. (2015). Chloroquine and beyond: exploring anti-rheumatic drugs to reduce immune hyperactivation in HIV/AIDS. *Retrovirology*, 12, 51. <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0178-0>

Saxena, V., Bichare, S., Singh, D., Ghate, M., Godbole, S., Kulkarni, S., Gangakhedkar, R., Paranjape, R., y Thakar, M. (2016). Short Communication: Low Immune Activation Is Associated with Higher Frequencies of Central Memory T Cell Subset in a Cohort of Indian Long-Term Nonprogressors. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 33(2), 121-125. <https://doi.org/10.1089/aid.2016.0210>

Schacker, T. W., Reilly, C., Beilman, G. J., Taylor, J., Skarda, D., Krason, D., Larson,

- M., Haase, A. T., Fiscus, S. A., y Mmiro, F. (2005). Amount of lymphatic tissue fibrosis in HIV infection predicts magnitude of HAART-associated change in peripheral CD4 cell count. *AIDS*, *19*(18), 2167-2175.  
<https://doi.org/10.1097/01.aids.0000194801.51422.03>
- Schacker, T. W., Reilly, C., Haase, A. T., Schacker, T. W., Nguyen, P. L., Beilman, G. J., Wolinsky, S., Larson, M., Reilly, C., y Haase, A. T. (2002). Collagen deposition in HIV-1 infected lymphatic tissues and T cell homeostasis Find the latest version : Collagen deposition in HIV-1 infected lymphatic tissues and T cell homeostasis Rapid Publication. *The Journal of Clinical Investigation*, *110*(8), 1133-1139. <https://doi.org/10.1172/JCI200216413>.Introduction
- Schuetz, A., Deleage, C., Sereti, I., Rerknimitr, R., Phanuphak, N., Phuang-Ngern, Y., Estes, J. D., Sandler, N. G., Sukhumvittaya, S., Marovich, M., Jongrakthaitae, S., Akapirat, S., Fletscher, J. L. K., Kroon, E., Dewar, R., Trichavaroj, R., Chomchey, N., Douek, D. C., O'Connell, R. J., ... De Souza, M. S. (2014). Initiation of ART during Early Acute HIV Infection Preserves Mucosal Th17 Function and Reverses HIV-Related Immune Activation. *PLoS Pathogens*, *10*(12), e1004543. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004543>
- Seng, R., Goujard, C., Krastinova, E., Mialhes, P., Orr, S., Molina, J. M., Saada, M., Piroth, L., Rouzioux, C., Meyer, L., Allegre, T., Livrozet, J. M., Jeanblanc, F., Chiarello, P., Makhloufi, D., Trepo, C., Peyramond, D., Koffi, J., Thoirain, V., ... Tassie, S. (2015). Influence of lifelong cumulative HIV viremia on long-term recovery of CD4+ cell count and CD4+/CD8+ ratio among patients on combination antiretroviral therapy. *AIDS*, *29*(5), 595-607.  
<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000571>
- Sepúlveda CCC, S., Cecilia, y Puente P, J. (2000). Células natural killer y el sistema inmune innato en la patología infecciosa. *Revista médica de Chile*, *128*(12), 1361-1370. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872000001200009>
- Sereti, I, Dunham, R. M., Spritzler, J., Aga, E., Proschan, M. A., Medvik, K., Battaglia, C. A., Landay, A. L., Pahwa, S., Fischl, M. A., Asmuth, D. M., Tenorio, A. R., Altman, J. D., Fox, L., Moir, S., Malaspina, A., Morre, M., Buffet, R., Silvestri, G., y Lederman, M. M. (2009). IL-7 administration drives T cell-cycle entry and expansion in HIV-1 infection. *Blood*, *113*(25), 6304-6314.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-186601>

- Sereti, Irini, Dunham, R. M., Spritzler, J., Aga, E., Proschan, M. A., Medvik, K., Battaglia, C. A., Landay, A. L., Pahwa, S., Fischl, M. A., Asmuth, D. M., Tenorio, A. R., Altman, J. D., Fox, L., Moir, S., Malaspina, A., Morre, M., Buffet, R., Silvestri, G., y Lederman, M. M. (2009). IL-7 administration drives T cell-cycle entry and expansion in HIV-1 infection. *Blood*, *113*(25), 6304-6314. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-186601>
- Serrano-Villar, S., Caruana, G., Zlotnik, A., Pérez-Molina, J., y Moreno, S. (2017). Effects of Maraviroc versus Efavirenz in Combination with Zidovudine-. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(12), e01763-17.
- Serrano-Villar, S., Gutiérrez, F., Miralles, C., Berenguer, J., Rivero, A., Martínez, E., y Moreno, S. (2016). Human Immunodeficiency Virus as a Chronic Disease: Evaluation and Management of Nonacquired Immune Deficiency Syndrome-Defining Conditions. *Open Forum Infectious Diseases*, *3*(3), ofw097. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofw097>
- Serrano-Villar, S., Moreno, S., Fuentes-Ferrer, M., Sánchez-Marcos, C., Ávila, M., Sainz, T., De Villar, N., Fernández-Cruz, A., y Estrada, V. (2014). The CD4:CD8 ratio is associated with markers of age-associated disease in virally suppressed HIV-infected patients with immunological recovery. *HIV Medicine*, *15*, 40-49. <https://doi.org/10.1111/hiv.12081>
- Serrano-Villar, S., Pérez-Elías, M., Dronda, F., Casado, J., Moreno, A., Royuela, A., Perez-Molina, J., Sainz, T., Navas, E., Hermida, J., Quereda, C., y Moreno, S. (2014). Increased Risk of Serious Non-AIDS-Related Events in HIV-Infected Subjects on Antiretroviral Therapy Associated with a Low CD4/CD8 Ratio. *PLoS ONE*, *9*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085798>
- Serrano-Villar, S., Sainz, T., Lee, S., Hunt, P., Sinclair, E., Shacklett, B., Ferre, A., Hayes, T., Somsouk, M., Hsue, P., Van Natta, M., Meinert, C., Lederman, M., Hatano, H., Jain, V., Huang, Y., Hecht, F., Martin, J., Mccune, J., ... Deeks, S. (2014). HIV-Infected Individuals with Low CD4/CD8 Ratio despite Effective Antiretroviral Therapy Exhibit Altered T Cell Subsets, Heightened CD8+ T Cell Activation, and Increased Risk of Non-AIDS Morbidity and Mortality. *PLoS Pathogens*, *10*(5), e1004078. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004078>
- Serrano-Villar, S., Zhou, Y., Rodgers, A., y Moreno, S. (2017). Different impact of

- raltegravir versus efavirenz on CD4/CD8 ratio recovery in HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 235-239.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkw375>
- Shiels, M. S. M. H. S., Pfeiffer, R. M., y Engels, E. A. M. P. H. (2010). Age at cancer diagnosis among people with AIDS in the United States. *Annals of Internal Medicine*, 153(7). <https://doi.org/10.1059/0003-4819-153-7-201010050-00008>
- Sloand, E. M., Kumar, P. N., Kim, S., Chaudhuri, A., Weichold, F. F., y Young, N. S. (1999). Human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor modulates activation of peripheral blood CD4+ T cells and decreases their susceptibility to apoptosis in vitro and in vivo. *Blood*, 94(3), 1021-1027.
- Smith, K., Zheng, L., Bosch, R., Margolis, D. M., Tenorio, A., Napolitano, L., Saag, M., Connick, E., Gross, B., Francis, I., Valdez, H., Muurahainen, N., Stocker, V., y Pollard, R. (2010). Treatment with Recombinant Growth Hormone Is Associated with Modest Improvement in CD4 Lymphocyte Reconstitution in HIV-Infected Persons on Antiretroviral Therapy: Results of ACTG A5174 (AIDS Research and Human Retroviruses (2010) 26 (425-432)). *AIDS Research and Human Retroviruses*, 26(7), 839. <https://doi.org/10.1089/aid.2010.9999>
- Somsouk, M., Estes, J. D., Deleage, C., Dunham, R. M., Albright, R., Inadomi, J. M., Martin, J. N., Deeks, S. G., Mccune, J. M., y Hunt, P. W. (2015). Gut epithelial barrier and systemic inflammation during chronic HIV infection HHS Public Access. *AIDS*, 29(1), 43-51. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000511>
- Ssinabulya, I., Kayima, J., Longenecker, C., Luwedde, M., Semitala, F., Kambugu, A., Ameda, F., Bugeza, S., Mccomsey, G., Freers, J., y Nakanjako, D. (2014). Subclinical Atherosclerosis among HIV-Infected Adults Attending HIV/AIDS Care at Two Large Ambulatory HIV Clinics in Uganda. *PLoS ONE*, 9(2).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089537>
- Stephen, D. L., Landon, M., Edwards, D., Bekker, L.-G., y Wood, R. (2009). Short-term and long-term risk of tuberculosis associated with CD4 cell recovery during antiretroviral therapy in South Africa Stephen. *AIDS*, 23(13), 1717-1725.  
<https://doi.org/10.1038/mp.2011.182.doi>
- Stiksrud, B., Aass, H. C. D., Lorvik, K. B., Ueland, T., Trøseid, M., y Dyrhol-Riise, A. M. (2019). Activated dendritic cells and monocytes in HIV immunological

nonresponders: HIV-induced interferon-inducible protein-10 correlates with low future CD4 R recovery. *AIDS*, 33, 1117-1129.

<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002173>

Stiksrud, B., Nowak, P., Nwosu, F. C., Kvale, D., Thalme, A., Sonnerborg, A., Ueland, P. M., Holm, K., Birkeland, S. E., Dahm, A. E. A., Sandset, P. M., Rudi, K., Hov, J. R., Dyrhol-Riise, A. M., y Trøseid, M. (2015). Reduced levels of D-dimer and changes in gut microbiota composition after probiotic intervention in HIV-infected individuals on stable ART. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 70(4), 329-337. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000784>

Stirrup, O., Copas, A., Phillips, A., Gill, M., Geskus, R., Touloumi, G., Young, J., Bucher, H., Babiker, A., y Stirrup, O. (2018). Predictors of CD4 cell recovery following initiation of antiretroviral therapy among HIV-1 positive patients with well-estimated dates of seroconversion. *HIV Medicine*, 19(3), 184-194. <https://doi.org/10.1111/hiv.12567>

Sun, J. C., y Lanier, L. L. (2009). Natural killer cells remember: An evolutionary bridge between innate and adaptive immunity? *Eur.J.Immunol*, 39, 2059-2064. <https://doi.org/10.1002/eji.200939435>

Taborda, N. A., Hernández, J. C., Montoya, C. J., y Rugeles, M. (2014). Las células natural killer y su papel en la respuesta inmunitaria durante la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo-1 Natalia. *Inmunologia*, 3(1), 11-20.

Taiwo, B., Li, X., Palella, F., Jacobson, L., Margolick, J., Detels, R., Rinaldo, C., y Phair, J. (2009). Higher risk of AIDS or death in patients with lower CD4 cell counts after virally suppressive HAART. *HIV Medicine*, 10(10), 657-660. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2009.00739.x>

Takuva, S., Long, L., Maskew, M., Fox, M. P., Sanne, I., Brennan, A. T., Maskew, M., Brennan, A. T., Long, L., Sanne, I., Fox, M. P., Maskew, M., Fox, M. P., Sanne, I., Brennan, A. T., y Takuva, S. (2014). Poor CD4 recovery and risk of subsequent progression to AIDS or death despite viral suppression in a South African cohort. *Journal of the International AIDS Society*, 17(1), 18651. <https://doi.org/10.7448/ias.17.1.18651>

Takuva, S., Maskew, M., Brennan, A. T., Long, L., Sanne, I., Fox, M. P., Maskew, M.,

- Fox, M. P., Sanne, I., Brennan, A. T., y Takuva, S. (2014). Poor CD4 recovery and risk of subsequent progression to AIDS or death despite viral suppression in a South African cohort. *Journal of the International AIDS Society*, 17(1), 18651. <https://doi.org/10.7448/IAS.17.1.18651>
- Talati, N. J., Seybold, U., Humphrey, B., Aina, A., Tapia, J., Weinfurter, P., Albalak, R., y Blumberg, H. M. (2009). Poor concordance between interferon- $\gamma$  release assays and tuberculin skin tests in diagnosis of latent tuberculosis infection among HIV-infected individuals. *BMC Infectious Diseases*, 10(9), 15. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-9-15>
- Tamargo Chamorro, L. M. (2010). *Terapia Antirretroviral De Gran Actividad (Targa): Prevalencia Factores , predictores y Evolución.*
- Tan, R., Westfall, A. O., Willig, J. H., Mugavero, M. J., Saag, M. S., Kaslow, R. A., y Kempf, M. C. (2008). Clinical outcome of HIV-infected antiretroviral-naive patients with discordant immunologic and virologic responses to highly active antiretroviral therapy. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 47(5), 553-558. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31816856c5>
- Teixeira, L., Valdez, H., McCune, J. M., Koup, R. A., Badley, A. D., Hellerstein, M. K., Napolitano, L. A., Douek, D. C., Mbisa, G., Deeks, S., Harris, J. M., Barbour, J. D., Gross, B. H., Francis, I. R., Halvorsen, R., Asaad, R., y Lederman, M. M. (2001). Poor CD4 T cell restoration after suppression of HIV-1 replication may reflect lower thymic function. *AIDS*, 15(14), 1749-1756. <https://doi.org/10.1097/00002030-200109280-00002>
- Tenorio, A. R., Chan, E. S., Bosch, R. J., Macatangay, B. J. C., Read, S. W., Yesmin, S., Taiwo, B., Margolis, D. M., Jacobson, J. M., Landay, A. L., y Wilson, C. C. (2015). Rifaximin has a marginal impact on microbial translocation, T cell activation and inflammation in HIV positive immune non responders to antiretroviral therapy. *Journal of Infectious Diseases*, 211. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu515>
- The INSIGHT START Study Group. (2015). Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *New England Journal of Medicine*, 373(9), 795-807. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1506816>
- The TEMPRANO ANRS 12136 Study Group. (2015). A Trial of Early Antiretrovirals

and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *New England Journal of Medicine*, 373(9), 808-822. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1507198>

Thiebaut, R., Jarne, A., Routy, J. P., Sereti, I., Fischl, M., Ive, P., Speck, R. F., D'Offizi, G., Casari, S., Commenges, D., Foulkes, S., Natarajan, V., Croughs, T., Delfraissy, J. F., Tambussi, G., Levy, Y., y Lederman, M. M. (2016). Repeated Cycles of Recombinant Human Interleukin 7 in HIV-Infected Patients with Low CD4 T-Cell Reconstitution on Antiretroviral Therapy: Results of 2 Phase II Multicenter Studies. *Clinical Infectious Diseases*, 62(9), 1178-1185. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw065>

Tincati, C., Merlini, E., Braidotti, P., Ancona, G., Savi, F., Tosi, D., Borghi, E., Callegari, M. L., Mangiavillano, B., Barassi, A., Bulfamante, G., D'Arminio Monforte, A., Romagnoli, S., Chomont, N., y Marchetti, G. (2016). Impaired gut junctional complexes feature late-treated individuals with suboptimal CD4 + T-cell recovery upon virologically suppressive combination antiretroviral therapy. *Aids*, 30(7), 991-1003. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001015>

Torti, C., Prosperi, M., Motta, D., Digiambenedetto, S., Maggiolo, F., Paraninfo, G., Ripamonti, D., Cologni, G., Fabbiani, M., Caputo, S. L., Sighinolfi, L., Ladisa, N., El-Hamad, I., Quiros-Roldan, E., y Frank, I. (2012). Factors influencing the normalization of CD4+ T-cell count, percentage and CD4+/CD8+ T-cell ratio in HIV-infected patients on long-term suppressive antiretroviral therapy. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(5), 449-458. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03650.x>

Trickey, A., May, M. T., Schommers, P., Tate, J., Ingle, S. M., Guest, J. L., Gill, M. J., Zangerle, R., Saag, M., Reiss, P., Monforte, A. D. A., Johnson, M., Lima, V. D., Sterling, T. R., Cavassini, M., Wittkop, L., Costagliola, D., y Sterne, J. A. . (2017). CD4:CD8 Ratio and CD8 Count as prognostic markers for mortality in human immunodeficiency virus-infected patients on antiretroviral therapy: The antiretroviral therapy cohort collaboration (ART-CC). *Clinical Infectious Diseases*, 65(6), 959-966. <https://doi.org/10.1093/cid/cix466>

Tuboi, Brinkhof, M. W. G., Egger, M., Stone, R., Braitstein, P., Nash, D., Sprinz, E., Dabis, F., Harrison, L., y Schechter, M. (2007). Discordant Responses to Potent Antiretroviral Treatment in Previously Naive HIV-1 – Infected Adults Initiating

Treatment in Resource-Constrained Countries. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 45(1), 52-59.

- Tuboi, S. H., Pacheco, A. G., Harrison, L. H., Stone, R. A., May, M., Brinkhof, M. W., Dabis, F., Egger, M., Nash, D., Bangsberg, D., Braitstein, P., Yiannoutsos, C. T., Wood, R., Sprinz, E., y Schechter, M. (2010). Mortality associated with discordant responses to antiretroviral therapy in resource-constrained settings. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 53(1), 70-77. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181c22d19>
- Usfbunfou, B. U., Levy, Y., Lacabaratz, C., Weiss, L., Viard, J., Goujard, C., Lelièvre, J., Boué, F., Molina, J., Rouzioux, C., Avettand-fénoël, V., Croughs, T., Beq, S., Thiébaud, R., Chêne, G., Morre, M., y Delfraissy, J. (2009). Enhanced T cell recovery in HIV-1 infected adults through IL-7 treatment. *Chief Executive*, 119(4), 997-1007. <https://doi.org/10.1172/JCI38052>.In
- Ussher, J. E., Phalora, P., Cosgrove, C., Hannaway, R. F., Rauch, A., Günthard, H. F., Goulder, P., Phillips, R. E., Willberg, C. B., y Klenerman, P. (2015). Molecular Analyses Define V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33+ MAIT Cell Depletion in HIV Infection. *Medicine*, 94(29), e1134. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000001134>
- Valiathan, R., Miguez, M. J., Patel, B., Arheart, K. L., y Asthana, D. (2014). Tobacco Smoking Increases Immune Activation and Impairs T-Cell Function in HIV Infected Patients on Antiretrovirals: A Cross-Sectional Pilot Study. *Plos one*, 9(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097698>
- Van Lelyveld, S. F. L., Gras, L., Kesselring, A., Zhang, S., De Wolf, F., Wensing, A. M. J., y Hoepelman, A. I. M. (2012). Long-term complications in patients with poor immunological recovery despite virological successful HAART in Dutch ATHENA cohort. *AIDS*, 26(4), 465-474. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32834f32f8>
- van Montfort, T., van der Sluis, R., Darcis, G., Beaty, D., Groen, K., Pasternak, A. O., Pollakis, G., Vink, M., Westerhout, E. M., Hamdi, M., Bakker, M., van der Putten, B., Jurriaans, S., Prins, J. H., Jeeninga, R., Thomas, A. A., Speijer, D., y Berkhout, B. (2019). Dendritic cells potently purge latent HIV-1 beyond TCR-stimulation, activating the PI3K-Akt-mTOR pathway. *EBioMedicine*, april(42), 97-108. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.02.014>

- Viard, J.-P., Mocroft, A., Chiesi, A., Kirk, O., Røge, B., Panos, G., Vetter, N., Bruun, J. N., Johnson, M., y Lundgren, J. D. (2001). Influence of Age on CD4 Cell Recovery in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy: Evidence from the EuroSIDA Study. *The Journal of Infectious Diseases*, 183(8), 1290-1294. <https://academic.oup.com/jid/article-abstract/183/8/1290/908045>
- Vieillard, V., Strominger, J. L., y Debré, P. (2005). NK cytotoxicity against CD4 T cells during HIV-1 infection: A gp41 peptide induces the expression of an NKp44 ligand. *PNAS*, 102(31), 10981-10986. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0504315102](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0504315102)
- Walker, W. E., Kurscheid, S., Joshi, S., Lopez, C. A., Goh, G., Choi, M., Barakat, L., Francis, J., Fisher, A., Kozal, M., Zapata, H., Shaw, A., Lifton, R., Sutton, R. E., y Fikrig, E. (2015). *Increased Levels of Macrophage Inflammatory Proteins Result in Resistance to R5-Tropic HIV-1 in a Subset of Elite Controllers*. <https://doi.org/10.1128/JVI.00118-15>
- Warren, J. A., Clutton, G., y Goonetilleke, N. (2019). Harnessing CD8+ T cells under HIV antiretroviral therapy. *Frontiers in Immunology*, 10(291). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00291>
- Wilkin, T. J., Lalama, C. M., Mckinnon, J., Gandhi, R. T., Lin, N., Landay, A., Ribaud, H., Fox, L., Currier, J. S., Mellors, J. W., Gulick, R., y Tenorio, A. R. (2012). A Pilot Trial of Adding Maraviroc to Suppressive Antiretroviral Therapy for Suboptimal CD4 + T-Cell Recovery Despite Sustained Virologic Suppression: ACTG A5256. *The Journal of Infectious Diseases*, 206(4), 534-542. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis376>
- Xu, W., Luo, Z., Alekseyenko, A. V., Martin, L., Wan, Z., Ling, B., Qin, Z., Heath, S. L., Maas, K., Cong, X., y Jiang, W. (2018). Distinct systemic microbiome and microbial translocation are associated with plasma level of anti-CD4 autoantibody in HIV infection. *Scientific Reports*, 8(1), 12863. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31116-y>
- Yaseen, M. M., Abuharfeil, N. M., Yaseen, M. M., y Shabsoug, B. M. (2018). The role of polymorphonuclear neutrophils during HIV-1 infection. *Archives of Virology*, 163(1), 1-21. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3569-9>

- Younas, M., Psomas, C., Reynes, J., y Corbeau, P. (2016). Immune activation in the course of HIV-1 infection. Causes, phenotypes and persistence under therapy. *HIV Medicine*, 17(2), 89-105. <https://doi.org/10.1111/hiv.12310> LK - <http://resolver.ebscohost.com/openurl?sid=EMBASE&issn=14681293&id=doi:10.1111%2Fhiv.12310&atitle=Immune+activation+in+the+course+of+HIV-1+infection%3A+Causes%2C+phenotypes+and+persistence+under+therapy&stitle=HIV+Med.&title=HIV+Medicine&volume=17&issue=2&spage=89&epage=105&aulast=Younas&aufirst=M.&aunit=M.&aufull=Younas+M.&coden=HMIEA&isbn=&pages=89-105&date=2016&aunit1=M&aunitm=>
- Yukl, S. A., Shergill, A. K., McQuaid, K., Gianella, S., Lampiris, H., Hare, C. B., Pandori, M., Sinclair, E., Günthard, H. F., Fischer, M., Wong, J. K., y Havlir, D. V. (2010). Effect of raltegravir-containing intensification on HIV burden and T-cell activation in multiple gut sites of HIV-positive adults on suppressive antiretroviral therapy. *AIDS*, 24(16), 2451-2460. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833ef7bb>
- Zhang, F., Sun, M., Sun, J., Guan, L., Wang, J., y Lu, H. (2015). The risk factors for suboptimal CD4 recovery in HIV infected population: An observational and retrospective study in Shanghai, China. *BioScience Trends*, 9(5), 335-341. <https://doi.org/10.5582/bst.2015.01107>
- Zhang, X., Hunt, P. W., Hammer, S. M., Cespedes, M. S., Patterson, K. B., y Bosch, R. J. (2013). Immune activation while on potent antiretroviral therapy can predict subsequent CD4+ T-cell increases through 15 years of treatment. *HIV Clinical Trials*, 14(2), 61-67. <https://doi.org/10.1310/hct1402-61>
- Zila, V., Margiotta, E., Turoňová, B., Müller, T. G., Zimmerli, C. E., Mattei, S., Allegretti, M., Börner, K., Rada, J., Müller, B., Lusic, M., Kräusslich, H. G., y Beck, M. (2021). Cone-shaped HIV-1 capsids are transported through intact nuclear pores. *Cell*, 184(4), 1032-1046.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.025>
- Zonios, D. I., Falloon, J., Bennett, J. E., Shaw, P. A., Chaitt, D., Baseler, M. W., Adelsberger, J. W., Metcalf, J. A., Polis, M. A., Kovacs, S. J., Kovacs, J. A., Davey, R. T., Lane, H. C., Masur, H., y Sereti, I. (2008). Idiopathic CD4+ lymphocytopenia: Natural history and prognostic factors. *Blood*, 112(2), 287-294. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-127878>

Zoufaly, A., Kollan, C., Bogner, J., Fätkenheuer, G., Wasmuth, J., Stoll, M., Hamouda, O., y van Lunzen, J. (2011a). Clinical Outcome of HIV-Infected Patients with Discordant Virological and Immunological Response to Antiretroviral Therapy. *Journal of Infectious Diseases*, 203(3), 364-371. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq055>

Zoufaly, A., Kollan, C., Bogner, J. R., Fätkenheuer, G., Wasmuth, J. C., Stoll, M., Hamouda, O., y van Lunzen, J. (2011b). Clinical Outcome of HIV-Infected Patients with Discordant Virological and Immunological Response to Antiretroviral Therapy. *Journal of Infectious Diseases*, 203(3), 364-371. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq055>