



FACULTAD DE MEDICINA

**RECONSTITUCIÓN INMUNE Y EFECTOS SOBRE LA DENSIDAD DE MASA ÓSEA
DEL TRATAMIENTO CON ZIDOVUDINA Y LAMIVUDINA JUNTO CON ABACAVIR O
LOPINAVIR/RITONAVIR EN PACIENTES CON SIDA**

TESIS DOCTORAL

PABLO RIVAS GONZÁLEZ

Madrid 2008

RESUMEN

Introducción

El efecto de los distintos tipos de tratamiento antirretroviral sobre la reconstitución del sistema inmune en pacientes con infección por el VIH severamente inmunodeprimidos no se conoce con detalle. El efecto del tratamiento antirretroviral y de la propia reconstitución inmune, sobre el metabolismo óseo tampoco ha sido estudiado extensamente en este grupo de pacientes.

Objetivos

Describir la reconstitución inmune, la evolución de los marcadores de activación y apoptosis, la eficacia clínica y la toxicidad, especialmente sobre la densidad de masa ósea, de un tratamiento de 48 semanas con la combinación de zidovudina y lamivudina junto con abacavir frente a un tratamiento con zidovudina y lamivudina con lopinavir/ritonavir en pacientes con SIDA.

Material y métodos

Se diseñó un estudio prospectivo, no aleatorizado. Se incluyeron pacientes con SIDA y/o $CD4+ < 200/\mu L$ atendidos en la Fundación Jiménez Díaz de Madrid. Los pacientes reclutados entre mayo de 2002 y abril de 2003 comenzaron un tratamiento con zidovudina, lamivudina y abacavir. Los pacientes reclutados entre mayo de 2003 y abril de 2004 iniciaron un tratamiento con zidovudina, lamivudina y lopinavir/ritonavir. Se analizaron parámetros clínicos e inmunológicos en las semanas 0, 4, 8, 16, 32 y 48. Se estudiaron marcadores de células *naïve* (CD45RA) y memoria (CD45RO), marcadores de activación celular (CD38, HLA-DR y CD25) y marcadores de apoptosis (CD95) en linfocitos T $CD4+$ y $CD8+$. Se realizó un densitometría ósea a los varones basalmente y tras 48 semanas de tratamiento.

Resultados

Se incluyeron 77 pacientes en el estudio: 43 pacientes en el grupo de 3 análogos y 34 en el grupo con lopinavir/ritonavir. El 90% eran varones, en su mayoría homosexuales de origen caucásico con una edad media de 40 años. La mediana de linfocitos $CD4+$ fue de 121 células/ μL y la carga viral de 5,2 logaritmos, similar en ambos grupos. El 51% de los pacientes tenían una enfermedad diagnóstica de SIDA. Las características clínicas e inmunológicas en ambas poblaciones fueron comparables salvo una mayor activación medida por CD38 y más apoptosis en el grupo de pacientes con IP. Basalmente, la cifra de $CD4+$ se relacionó de forma directa con la cifra de $CD8+$ y de forma inversa con el porcentaje de $CD8 CD38+$ (R^2 ajustado: 0,382). Tras 48 semanas, en un análisis por intención de tratar, la proporción de pacientes con carga viral indetectable fue del 44,2% en el grupo de 3 análogos y del 64,7% en el grupo con lopinavir/ritonavir ($p=0,072$). En el análisis en tratamiento un 73,1% de los pacientes con 3 análogos estaban indetectables frente al 95,7% de los pacientes con lopinavir/ritonavir ($p=0,011$). El incremento de $CD4+$ al año de tratamiento se asoció con el tratamiento con lopinavir/ritonavir y con el porcentaje basal de $CD8+ CD25+$ (R^2 ajustado: 0,263). El tratamiento con AZT, 3TC y ABC no se asoció a una desactivación mantenida de la población de linfocitos $CD4+$ y $CD8+$ a diferencia del tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir. Ninguno de los tratamientos ensayados logró disminuir la apoptosis linfocitaria medida por CD95, ni produjo cambios significativos en la población de linfocitos de fenotipo *naïve* o memoria. En cuanto a la masa ósea, se realizó una densitometría ósea basal y tras 48 semanas de tratamiento en 32 pacientes (17 con 3 análogos y 15 con lopinavir/ritonavir). Se encontró una alta prevalencia de osteopenia antes del tratamiento antirretroviral tanto en columna lumbar, como en cadera y radio. Tras un año de TARGA se objetivó una disminución de la densidad de masa ósea de origen multifactorial pero más acusada con la combinación de AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir. Como hallazgos colaterales se describe una forma clínica singular de la reacción de hipersensibilidad al abacavir que cursa con grandes adenopatías laterocervicales remediando un síndrome de reconstitución inmune. Además, se describe el índice de distribución de los hematíes como un nuevo marcador de adherencia durante los primeros meses de uso de la zidovudina.

Conclusiones

El tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir tiene una mayor potencia virológica y una mayor capacidad de recuperación de linfocitos $CD4+$ y de desactivación del sistema inmune que el tratamiento con AZT, 3TC y ABC en pacientes con SIDA con una similar tasa de adherencia y de abandonos por efectos secundarios. Sin embargo podría asociarse a un mayor descenso de la densidad de masa ósea.

ÍNDICE	Página
INTRODUCCIÓN	1
La reconstitución inmune.....	2
Poblaciones linfocitarias: linfocitos T <i>naïve</i> y memoria.....	6
Marcadores de activación.....	7
La apoptosis.....	9
Metabolismo óseo, VIH y tratamiento antirretroviral.....	10
 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	 12
OBJETIVO PRINCIPAL.....	14
OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	14
 MATERIAL Y MÉTODOS	 15
Criterios de inclusión.....	16
Criterios de exclusión.....	17
Técnicas de laboratorio.....	22
Estudio del metabolismo óseo.....	22
Análisis estadístico.....	23
 RESULTADOS	 25
Características basales.....	26
Correlaciones basales de CD4+, CD8+ y carga viral con marcadores inmunológicos.....	32
Correlaciones basales entre las poblaciones <i>naïve</i> y memoria de CD4+ y CD8+ y los marcadores de activación y apoptosis.....	34

Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD4+ y marcadores de activación de CD8+ y apoptosis.....	36
Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD8+ y marcadores de activación de CD4+ y apoptosis.....	37
Fracasos de tratamiento.....	38
Reacciones de hipersensibilidad y síndrome de reconstitución inmune.....	45
Evolución de la población de linfocitos CD4+ y CD8+ con TARGA.....	47
Evolución de los linfocitos CD4+ CD38+.....	56
Evolución de los linfocitos CD4+ HLA-DR+.....	58
Evolución de los linfocitos CD4+ CD25+.....	60
Evolución de los linfocitos CD8+ CD38+.....	62
Evolución de los linfocitos CD8+ HLA-DR+.....	64
Evolución de los linfocitos CD8+ CD25+.....	66
Evolución de los marcadores de células <i>naïve</i> y memoria en linfocitos CD4 + y CD8+.....	68
Evolución de los marcadores de apoptosis en linfocitos CD4+ y CD8+.....	73
Análisis basal de la densidad de masa ósea.....	79
Evolución de la densidad de masa ósea con TARGA.....	86
Otros hallazgos: cambios en el índice de distribución de los hematíes asociados a AZT como marcador de adherencia al tratamiento.....	90
DISCUSIÓN	92
Eficacia y toxicidad del tratamiento.....	93
Síndrome de reconstitución inmune.....	95
Las relaciones entre CD4+ y carga viral y marcadores inmunológicos basales.....	96

Recuperación de CD4+.....	98
Evolución marcadores de activación.....	100
Evolución marcadores de apoptosis.....	103
Evolución de los marcadores de células <i>naïve</i> y memoria.....	104
Metabolismo óseo, VIH y TARGA.....	105
Índice de distribución de los hematíes y AZT.....	109
Limitaciones del estudio.....	110
CONCLUSIONES	112
BIBLIOGRAFÍA	115
ANEXO: Publicaciones con datos extraídos de esta tesis.....	125
Comunicaciones a congresos nacionales.....	126
Comunicaciones a congresos internacionales.....	131
Publicaciones internacionales.....	140

ÍNDICE DE TABLAS	Página
Tabla 1. Diagrama de seguimiento.....	18
Tabla 2. Características demográficas basales.....	27
Tabla 3. Criterios diagnósticos de SIDA previos al inicio del tratamiento.....	30
Tabla 4. Características inmunológicas y virológicas basales.....	31
Tabla 5. Correlaciones basales entre CD4+, CD8+ y carga viral con marcadores inmunológicos.....	33
Tabla 6. Correlaciones basales entre las poblaciones <i>naïve</i> y memoria de CD4+ y CD8+ y los marcadores de activación y de apoptosis.....	35
Tabla 7. Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD4+ y marcadores de activación de CD8+ y apoptosis.....	36
Tabla 8. Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD8+ y marcadores de activación de CD4+ y apoptosis.....	37
Tabla 9. Causas de fracaso del tratamiento.....	42
Tabla 10. Variables asociadas en el estudio multivariante con el incremento de CD4+ a los 12 meses.....	52
Tabla 11. Variables asociadas en el estudio multivariante con el incremento de CD4+ a los 4 meses.....	52
Tabla 12. Correlaciones entre el porcentaje de CD4+ activados (CD4+ CD38+) y el porcentaje de CD4+ que expresan marcadores de apoptosis (CD4+ CD95+) en cada momento del seguimiento.....	77
Tabla 13. Correlaciones entre el porcentaje de CD8+ activados (CD8+ CD38+) y el porcentaje de CD8+ que expresan marcadores de apoptosis (CD8+ CD95+) en cada momento del seguimiento.....	78

Tabla 14. Características clínicas basales de los pacientes con densitometría basal y tras un año de tratamiento.....	82
Tabla 15. Marcadores inmunológicos basales de los pacientes con densitometría ósea basal y tras un año de tratamiento.....	83
Tabla 16. Densidad de masa ósea, <i>t-score</i> y presencia de osteopenia en el momento basal.....	84
Tabla 17. Análisis multivariante de los factores asociados con la densidad de masa ósea en el momento basal.....	85
Tabla 18. Análisis multivariante de los factores asociados con la variación de la densidad de masa ósea tras un año de tratamiento.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. Modelo de la hoja de recogida de datos.....	21
Figura 2. Prevalencia de serología positiva al VHA (IgG) en la población de pacientes de origen caucásico.....	28
Figura 3. Evolución de los pacientes en tratamiento con AZT, 3TC y ABC.....	40
Figura 4. Evolución de los pacientes en tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.....	41
Figura 5. Curva de supervivencia: tiempo hasta el fracaso del tratamiento.....	43
Figura 6. Curva de supervivencia: tiempo hasta el fracaso virológico.....	44
Figura 7. Reacción de hipersensibilidad a abacavir con grandes adenopatías laterocervicales.....	46
Figura 8. Evolución de la mediana de CD4+ en pacientes que iniciaron tratamiento con AZT, 3TC y ABC o lopinavir/ritonavir.....	50
Figura 9. Evolución de la mediana de CD4+ en pacientes con AZT, 3TC y ABC o lopinavir/ritonavir que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	50
Figura 10. Evolución de la mediana del porcentaje de CD4+.....	51
Figura 11. Evolución de la mediana del porcentaje de CD4+ en los pacientes que alcanzaron carga viral indetectable al año de tratamiento.....	51
Figura 12. Variación de la activación de CD8+ medida como CD8+ CD38+ en los pacientes con incrementos mayores o menores de 100 CD4+ tras un año de tratamiento.....	53
Figura 13. Evolución de la mediana de linfocitos CD8+.....	54
Figura 14. Evolución de la mediana de linfocitos CD8+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable al año de tratamiento.....	54

Figura 15. Evolución de la mediana del porcentaje de linfocitos CD8+.....	55
Figura 16. Evolución del porcentaje de linfocitos CD8+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	55
Figura 17. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD38+.....	57
Figura 18. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD38+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	57
Figura 19. Evolución de la mediana del % de CD4+ HLA-DR +.....	59
Figura 20. Evolución de la mediana del % de CD4+ HLA-DR + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	59
Figura 21. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD25+.....	61
Figura 22. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD25 + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	61
Figura 23. Evolución de la mediana del % de CD8+ CD38 +.....	63
Figura 24. Evolución de la mediana del % de CD8+ CD38 + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	63
Figura 25. Evolución de la mediana del % de CD8+ HLA-DR+.....	65
Figura 26. Evolución de la mediana del % de CD8+ HLA-DR + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras 1 año de tratamiento.....	65
Figura 27. Evolución de la mediana del % de CD8+ CD25 +.....	67
Figura 28. Evolución de la mediana del % de CD8+ CD25 + en los pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	67
Figura 29. Evolución de los linfocitos CD4 CD45RA+ y CD4 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC.....	69

Figura 30. Evolución de los linfocitos CD4 CD45RA+ y CD4 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	69
Figura 31. Evolución de los linfocitos CD4 CD45RA+ y CD4+ CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.....	70
Figura 32. Evolución de los linfocitos CD4 CD45 RA+ y CD4 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	70
Figura 33. Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC.....	71
Figura 34. Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	71
Figura 35. Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.....	72
Figura 36. Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	72
Figura 37. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD95+.....	75
Figura 38. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD95+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	75
Figura 39. Evolución de la mediana del % de CD8+ CD95 +.....	76
Figura 40. Evolución de la mediana del % de CD8+ CD95 + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.....	76

Figura 41. Mediana de la variación en la densidad de masa ósea (en %) tras un año de tratamiento.....	89
Figura 42. Variación en el índice de distribución de los hematíes durante el tratamiento.....	91
Figura 43. Variación del volumen corpuscular medio durante el tratamiento con AZT.....	91

ABREVIATURAS

3TC:	lamivudina.
ABC:	abacavir.
Ac VHC:	anticuerpos del virus de la hepatitis C.
ACTG:	<i>AIDS Clinical Trials Group.</i>
ADVP:	adictos a drogas por vía parenteral.
Ag HBs:	antígeno de superficie de la hepatitis B.
AZT:	zidovudina.
CD:	<i>cluster of differentiation.</i>
CDC:	<i>center for Diseases Control.</i>
ddl:	didanosina.
DMO:	densidad de masa ósea.
DMO:	densitometría ósea.
DS:	desviación estándar.
DXA:	Absorciometría de rayos x de energía dual.
FTC:	emtricitabina.
HLA:	<i>human leukocyte antigen.</i>
IDH:	índice de distribución de los hematíes.
IIC:	intervalo intercuartílico.
IL-2:	interleuquina 2.
IL-7:	interleuquina 7.
IMC:	índice de masa corporal.
IP:	inhibidores de la proteasa.
ITIAN:	inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos/nucleótidos.
ITINAN:	inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos.
MAI:	<i>Mycobacterium avium intracellulare.</i>
PCP:	neumonía por <i>Pneumocystis jiroveci.</i>
SRI:	síndrome de reconstitución inmune.
TARGA:	tratamiento antirretroviral de gran actividad.
TBC:	tuberculosis.
TCR:	receptores de células T.
TDF:	tenofovir disoproxil fumarato.
TNF:	factor de necrosis tumoral.
TRECs :	<i>T-cell receptor excision circles.</i>
TRG:	triglicéridos.
VCM:	volumen corpuscular medio.
VHB:	virus de la hepatitis B.
VHC:	virus de la hepatitis C.
VIH:	virus de la inmunodeficiencia humana.
VSG:	velocidad de sedimentación globular.

INTRODUCCIÓN

La reconstitución inmune.

El tratamiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha experimentado un gran avance en los últimos años cambiando radicalmente el pronóstico de la enfermedad. A partir del año 1996 el uso generalizado de combinaciones de al menos 3 fármacos antirretrovirales se tradujo rápidamente en un aumento de la supervivencia y de la calidad de vida de nuestros enfermos (1,2). El tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) consigue reducir la replicación viral del VIH durante periodos de tiempo prolongados lográndose una progresiva recuperación del sistema inmune de los pacientes.

Tras el inicio del TARGA el número de linfocitos T CD4+ en sangre periférica comienza a aumentar en un proceso que clásicamente se ha considerado bifásico (3,4). En una primera fase, que puede durar entre 2 y 6 meses, se produce un rápido incremento de los linfocitos CD4+. Este incremento inicial es menor en pacientes con una caída más lenta de CD4+ durante el año previo al inicio del TARGA (5). El incremento de CD4+ durante esta fase se basa en una disminución de la activación de los linfocitos y su liberación desde el tejido linfóide a la sangre. Estos linfocitos liberados desde el tejido linfóide son linfocitos memoria que ya han tenido contacto con un antígeno específico (6). En una segunda fase se reconstituye la cifra de CD4+ de forma más lenta a partir de linfocitos CD4+ memoria y de linfocitos CD4+ vírgenes o *naïve* formados en el timo y que aún no han tenido contacto con ningún antígeno. Esta segunda fase de recuperación de CD4+, más lenta y prolongada, puede durar 5-6 años y posiblemente más (7,8). Algunos estudios han demostrado que este patrón de repoblación no es tan fijo: en niños sometidos a tratamiento antirretroviral, ya desde el primer momento, la repoblación es con células de fenotipo vírgenes (9) y en adultos puede ser muy heterogénea (9,10).

La magnitud de esta recuperación de CD4+ depende de las características del huésped y de factores relacionados con el virus. El principal factor asociado a una buena recuperación de CD4+ es el mantenimiento de una carga viral indetectable con el tratamiento (8). Una cifra baja de CD4+ al inicio del TARGA también se han relacionado con una pobre respuesta a largo plazo de CD4+ a pesar de la obtención de una carga viral indetectable (11). Otros factores como la edad avanzada, el sexo masculino, la raza blanca, la duración de la infección, la coinfección con el virus de la hepatitis C (VHC) o el estadio C de la enfermedad se han relacionado con la reconstitución de CD4+ pero con distinto grado de evidencia (11). La carga viral también se ha relacionado con el incremento de CD4+ con el TARGA. En pacientes con cargas virales altas el incremento de CD4+ tras el inicio del TARGA es mayor que en pacientes con cargas virales bajas. Este fenómeno se ha visto tanto en pacientes infectados por VIH-1 como por VIH-2 (12,13).

El papel de las distintas poblaciones linfocitarias sobre la reconstitución inmune, el papel del timo y de diversas citoquinas también ha sido investigado en los últimos años. En general una reconstitución inmune deficiente se ha asociado a pacientes con menores cifras de linfocitos T *naïve*, peor timopoyesis y menor producción de interleuquina-7 (IL-7) que es un inductor de la proliferación linfocitaria (14). El incremento de la activación de los linfocitos T CD4+ y CD8+ (15) y una alta tasa de apoptosis (16) también se han asociado con una pobre respuesta inmunológica al TARGA. Una replicación viral mantenida en tejido linfático, a pesar de tener carga viral indetectable en plasma, se ha propuesto como un mecanismo que mantiene activada a la población linfocitaria y dificulta una adecuada reconstitución inmune (11).

Las diferencias en la de capacidad recuperación inmune y la evolución de los marcadores de activación celular y de apoptosis con los diferentes tratamientos

antirretrovirales no se conoce con exactitud. Los principales estudios realizados hasta la fecha sobre la reconstitución inmune se llevaron a cabo con regímenes basados en inhibidores de la proteasa (IP) más utilizados en el pasado como el indinavir y el ritonavir (3,17,18). Estos estudios han ido básicamente dirigidos a conocer la proliferación y redistribución de los linfocitos CD4+ y CD8+ (tanto de células *naïve* como de células memoria) y la reconstitución “cualitativa” de estos linfocitos medida como la recuperación de su capacidad de respuesta a diversos estímulos antigénicos. Los estudios comparativos que evalúan la capacidad de reconstitución inmune de distintas combinaciones de tratamiento se han llevado a cabo en pacientes con estadios no muy avanzados de la enfermedad (19,20), siendo escasos los estudios que evalúan la reconstitución inmune en pacientes con inmunodepresión severa o con diagnóstico de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Los ensayos clínicos suelen excluir expresamente a los pacientes muy inmunodeprimidos o con enfermedades oportunistas por su mayor riesgo de complicaciones y su peor pronóstico. En estos pacientes la cinética de las distintas poblaciones linfocitarias durante el TARGA no ha sido estudiada con profundidad. En estos pacientes muy inmunodeprimidos se viene utilizando tradicionalmente un IP potenciado como primera línea de tratamiento posiblemente por tener una barrera genética más alta que los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINAN). Sin embargo el hecho de que la reconstitución inmune sea mejor con IP que con ITINAN es muy controvertido (21). Un gran estudio reciente (ACTG 5142) en pacientes con una mediana de carga viral en torno a 5 logaritmos y CD4+ ligeramente menores a 200 células/ μ L ha encontrado un mayor incremento de CD4+ con un tratamiento con 2 análogos más lopinavir/ritonavir frente a dos análogos más efavirenz aunque paradójicamente asociado a un mayor fracaso virológico (22).

El lopinavir es un IP que administrado junto con ritonavir consigue unas altas concentraciones plasmáticas y una actividad antiviral superior a los IP como el nelfinavir (23). Actualmente, se considera la combinación de 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos/nucleótidos (ITIAN) y lopinavir/ritonavir como una de las terapias de inicio de elección en los pacientes con infección por el VIH (24).

Las terapias basadas en la combinación de 3 ITIAN con zidovudina (AZT), lamivudina (3TC) y un tercer ITIAN como el abacavir (ABC) inicialmente resultaron prometedoras. Un meta-análisis retrospectivo de 23 estudios llevado a cabo en 2001 en pacientes *naïve* determinó que la eficacia de la combinación de AZT, 3TC y ABC tenía una actividad comparable a los regímenes clásicos con 2 ITIANs más un ITINAN o un IP (25). Sin embargo, varios estudios prospectivos han comparado la eficacia de esta pauta frente a un tratamiento con 2 ITIANs junto con indinavir (26), atazanavir (27) y efavirenz (28) y han demostrado su menor eficacia, especialmente en pacientes con cargas virales mayores de 100.000 copias HIV-1/mL. Estos hallazgos han hecho que esta terapia ya no se considere como terapia de inicio en pacientes *naïve*. Esta pauta tiene también otras potenciales desventajas como son el riesgo de reacciones de hipersensibilidad graves (29). Por otra parte, la asociación de AZT, 3TC y ABC aporta la posibilidad de un tratamiento de una única pastilla cada 12 horas y sin restricciones alimentarias lo que puede aumentar la adherencia al tratamiento (30,31) y ofrece la ventaja de un tratamiento con pocas interacciones medicamentosas y la posibilidad de reservar otros tratamientos de otras familias de antirretrovirales para futuras terapias. Por ello algún paciente aún puede ser candidato a recibir este tratamiento. La reconstitución de las distintas subpoblaciones linfocitarias y la evolución de los marcadores de activación o apoptosis en pacientes con SIDA bajo este tratamiento no han sido estudiadas con detalle.

Poblaciones linfocitarias: linfocitos T *naïve* y memoria.

La molécula CD45 es una glucoproteína característica de la superficie de las células de estirpe hematopoyética implicada en la traducción de señales de los linfocitos.

Clásicamente se considera que las poblaciones de linfocitos se dividen en dos poblaciones según expresen una de las dos isoformas del antígeno CD45: las células vírgenes o *naïve*, que aún no han tenido contacto con el antígeno, y que expresan CD45RA y las células memoria, que ya han tenido contacto con un antígeno específico, y que expresan CD45RO (32). Las alteraciones en distintas subpoblaciones de linfocitos T aparecen de forma muy temprana tras la infección por el VIH y evolucionan de forma dinámica durante la progresión hacia estadios más avanzados. Así, se ha observado que ya en pacientes con infección asintomática y recuento de linfocitos CD4+ dentro de los límites de la normalidad, existen alteraciones en las subpoblaciones virgen (CD45RA+) y memoria (CD45RO+) de linfocitos CD4+ y CD8+, así como en el estado de activación de estas subpoblaciones (33). A medida que la infección progresa a estadios más avanzados, se produce un descenso en el porcentaje de linfocitos CD4+ con fenotipo virgen y un aumento relativo en el de células memoria, así como una mayor activación (33). Respecto a los linfocitos CD8+ en general se considera que se encuentran incrementados en todos los estadios de la enfermedad principalmente a expensas de una linfocitosis de CD8+ CD45RO+. Además, el incremento de esta población CD8+ CD45RO+ que co-expresa el marcador de activación CD38 es un buen predictor de la caída de linfocitos CD4+ (34).

Periódicamente se describen nuevos marcadores de la superficie de los linfocitos que pueden caracterizar mejor su fenotipo como el CCR7 o el CD62L que caracterizan linfocitos en las diferentes fases e incluso diferentes vías de diferenciación de *naïve* a memoria (35). La función del timo también se ha comenzado a estudiar con nuevas

herramientas tanto morfológicas (tamaño en pruebas radiológicas o cambios histológicos) como inmunológicas. En este sentido, además de la producción de células *naïve* periféricas, para evaluar la timopoyesis se ha desarrollado una nueva técnica basada en la cuantificación del número linfocitos portadores de TRECs (*T-cell receptor excision circles*) (36). Los TRECs son círculos de ADN escindidos de los genes que codifican para los receptores de células T (TCR) y son considerados marcadores moleculares de función tímica. En esta tesis se han usado los marcadores clásicos para determinar el fenotipo de los linfocitos CD4+ y CD8+ (CD45RA y CD45RO) pues en su comienzo no estaban plenamente desarrollados ni estandarizados otros marcadores.

Marcadores de activación.

El aumento de la activación de los linfocitos se ha asociado clásicamente a un mal pronóstico de la enfermedad. Por el contrario su disminución con el TARGA se asocia a una buena evolución clínica (37). La molécula de activación HLA-DR (*Human Leukocyte Antigen*) es un antígeno de histocompatibilidad de tipo II y se expresa en las células presentadoras de antígeno. El HLA-DR también es una molécula inducible en los linfocitos T tras ser activados por estímulos antigénicos tanto en CD4+ como en CD8+ (38). La molécula CD38 es una glicoproteína que se expresa en precursores hematopoyéticos, se pierde en las células maduras en reposo pero se reinduce tras la activación celular (39). La cinética de expresión de HLA-DR y de CD38 en la población de linfocitos CD8+ durante el curso de la enfermedad es diferente. La expresión de HLA-DR aumenta bruscamente ya desde la primoinfección, y se mantiene posteriormente alta y estable. La expresión de CD38 se incrementa gradualmente durante la infección (40). Respecto a los CD4+, el aumento de la expresión de CD38 Y HLA-DR se produce en estadios tempranos de la enfermedad y progresa a lo largo del tiempo habiéndose

observado una alta correlación entre la alta expresión de estos marcadores de activación de CD4+ y los niveles de carga viral en plasma y la progresión de la infección (41). De hecho, el virus integrado en los CD4+ precisa de la activación celular para poder expandirse y se ha postulado que el mantenimiento de una alta tasa de activación de CD4+ podría ser un signo de replicación viral activa (42). Los tratamientos con esteroides, que disminuyen la cantidad de HLA-DR en la población de CD4+, se han asociado a disminuciones de la carga viral o la antigenemia de VIH (43) y el tratamiento con citoquinas como la interleuquina-2 (IL-2), que podría aumentar la activación linfocitaria, puede producir incrementos de la carga viral (44). Tras la instauración del TARGA se ha descrito clásicamente que se produce una rápida y significativa reducción en la activación de las distintas poblaciones linfocitarias en paralelo con el control de la replicación viral (3,4) aunque se desconoce si la evolución de la activación linfocitaria es similar con el uso de tratamientos basados en IP, ITINAN o 3 análogos de los nucleósidos.

El CD25 es la cadena alfa del receptor de IL-2. La expresión de esta molécula en los linfocitos T se ha relacionado, de forma muy general, con el control de fenómenos de autoinmunidad (45). Se ha descrito un descenso de CD25 tanto en linfocitos CD4+ como en linfocitos CD8+ en pacientes con infección por VIH lo que se ha correlacionado con un descenso en su capacidad proliferativa (46). En los últimos años, el estudio de las poblaciones de linfocitos CD25+ se ha centrado especialmente en un subgrupo de células que expresan CD25 llamadas células T-reguladoras. Estas células T-reguladoras son linfocitos CD4+ que expresan CD25+ con alta intensidad (CD4+CD25^{high}), expresan otros marcadores como Foxp3, y se han asociado con la supresión del daño tisular colateral asociado a una respuesta inflamatoria prolongada (45). Su papel en el control del VIH ha merecido gran atención en los últimos años (47). Como con los otros marcadores de

activación la evolución de la población de linfocitos CD25+ con diferentes regímenes con o sin IP no se conoce con exactitud.

La apoptosis.

La activación crónica de los linfocitos CD4+ y CD8+, característica de la infección por VIH, puede aumentar la tasa de apoptosis de las distintas poblaciones linfocitarias y podría asociarse a una pobre reconstitución inmune (3,4). Los receptores CD95 (APO-1/Fas) pertenecen a la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) y desempeñan, junto con otros mecanismos, un papel esencial en la apoptosis. La interacción de CD95 (Fas) con su ligando (CD95L) constituye un camino apoptótico fisiológico, ampliamente utilizado por el sistema inmune durante la linfopoyesis. El incremento de la expresión de esta molécula en los linfocitos CD4 + en pacientes con VIH se ha asociado con la depleción de CD4+ y la progresión a SIDA (48). En los pacientes VIH +, no solamente los linfocitos CD4+ si no también los CD8+ pueden tener una tendencia aumentada a la apoptosis mediada por esta vía (49). La disminución de la expresión de este marcador CD95 en los linfocitos tras el tratamiento antirretroviral se ha asociado con el incremento de CD4+ (50) aunque este fenómeno no ha sido estudiado en profundidad en pacientes severamente inmunodeprimidos.

Metabolismo óseo, VIH y tratamiento antirretroviral.

Además de la toxicidad a corto plazo de los antirretrovirales (anemia, toxicidad gastrointestinal, hepatitis, etc.) ya de forma temprana tras la generalización del uso de IP se fueron haciendo evidentes los efectos adversos a largo plazo de estos tratamientos. Son conocidas las alteraciones sobre el perfil glucémico o sobre el metabolismo lipídico de la terapia antirretroviral especialmente con IP. En esta tesis se ha prestado especial atención al efecto del TARGA sobre la masa ósea pues hasta la fecha ha sido un aspecto que no se ha estudiado tan extensamente. Además, en los últimos años se está haciendo evidente que numerosos procesos del metabolismo óseo están relacionados con factores inmunológicos. Algunos autores están empezando a llamar “osteoinmunología” a una nueva disciplina que estudia esta interacción entre el sistema inmune y el hueso (51,52). Siendo el VIH el paradigma de las enfermedades con alteraciones del sistema inmune la investigación de alteraciones del metabolismo óseo en esta enfermedad tiene un gran interés.

Se sabe que la osteoporosis y la osteopenia es más frecuente en pacientes con VIH que en la población general (53-55). Múltiples factores pueden contribuir a este descenso de la masa ósea en pacientes infectados por el VIH. Se puede incluir la inactividad física, el bajo peso, el consumo disminuido de calcio o vitamina D, el consumo de tabaco, drogas o de alcohol en exceso, o el déficit de hormonas sexuales. El incremento de citoquinas proinflamatorias asociado a la infección crónica o el VIH por sí mismo podrían contribuir a un descenso de la densidad de masa ósea (DMO) (56). También se ha sugerido un posible efecto deletéreo del tratamiento antirretroviral sobre la DMO, especialmente de los IP, pero este extremo aún es controvertido (57-60). Los estudios que evalúan este efecto en pacientes *naïve* son muy escasos (61-64) y no existe ninguno llevado a cabo en paciente en estadios avanzados de forma longitudinal. Además es raro encontrar

estudios en los que sólo cambie un componente del tratamiento al que se le pueda atribuir un determinado efecto por lo que es interesante el estudio del posible efecto que el lopinavir/ritonavir puede tener aisladamente sobre la masa ósea.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En pacientes con estadios avanzados de infección por VIH con criterios de SIDA la reconstitución inmune y la evolución de los marcadores de activación y apoptosis en los linfocitos CD4+ y CD8+ no se han estudiado en profundidad. En este grupo de pacientes la evolución de las distintas subpoblaciones linfocitarias podría ser diferente que la descrita en pacientes con menor grado de inmunosupresión. El efecto de los diferentes tipos de tratamiento sobre esta recuperación inmune tampoco se conoce con detalle. No se sabe con certeza si el uso de inhibidores de la proteasa como el lopinavir/ritonavir ejerce un papel beneficioso añadido sobre la reconstitución inmune frente a los tratamientos con tres análogos de los nucleósidos más allá de la obtención de una carga viral indetectable.

El uso en dos grupos de pacientes de un tratamiento triple que sólo difiere en el empleo de ABC o lopinavir/ritonavir podría permitir aislar tanto los efectos beneficiosos virológicos e inmunológicos como los efectos nocivos en cuanto a toxicidad o adherencia del uso de este IP.

Nuestra hipótesis inicial es que podrían existir diferencias en la reconstitución inmune en pacientes que usan diferentes tratamientos antirretrovirales, especialmente IP. Sin embargo, las posibles ventajas en potencia antiviral del uso de IP podrían no compensarse por una mayor tasa de efectos adversos o una menor adherencia en pacientes con SIDA frente al uso de tres análogos. También nos preguntamos si algunos marcadores clínicos o inmunológicos previos al tratamiento podrían predecir una buena respuesta inmunológica o predecir también otros efectos deletéreos del TARGA como el síndrome de reconstitución inmune (SRI) o la hipersensibilidad al ABC.

Finalmente pensamos que algunos factores inmunológicos y que el TARGA pueden estar implicados en el desarrollo de osteopenia y osteoporosis en los pacientes con SIDA.

Con todo esto en esta tesis se han propuesto los siguientes objetivos:

OBJETIVO PRINCIPAL

- El objetivo principal del estudio es describir la reconstitución inmune, la evolución de los marcadores de activación y apoptosis, la eficacia clínica y la toxicidad, especialmente sobre la densidad de masa ósea, de un tratamiento de 48 semanas con la combinación de AZT + 3TC + ABC frente a un tratamiento con AZT + 3TC y lopinavir/ritonavir en pacientes con SIDA.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Describir las correlaciones entre los marcadores de activación y apoptosis y las distintas poblaciones de linfocitos CD4+ y CD8+, la carga viral o las enfermedades diagnósticas de SIDA antes del inicio del TARGA.
- Describir los factores basales asociados a una mala reconstitución inmune en un tratamiento con 3 ITIAN o basado en IP.
- Conocer si las características basales clínicas y de las distintas subpoblaciones de linfocitos pueden predecir la respuesta inmune al tratamiento antirretroviral.
- Buscar factores inmunológicos predictores de la reacción de hipersensibilidad al abacavir y del síndrome de reconstitución inmune.
- Describir la prevalencia de osteopenia y osteoporosis en una población de pacientes con SIDA y la evolución de la densidad ósea tras un tratamiento de un año con y sin IP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó de estudio prospectivo y descriptivo para realizarlo con pacientes de la División de Enfermedades Infecciosas de la Fundación Jiménez Díaz de Madrid. El estudio fue presentado y aceptado por el comité ético de este centro. No se consideró la investigación como un ensayo clínico por lo que no se hizo un diseño aleatorizado. Se comenzó el estudio con un grupo de pacientes que iniciaron TARGA con la combinación de AZT + 3TC + ABC (asociados en una sola pastilla como Trizivir^R). El periodo de reclutamiento de este grupo duró un año desde mayo de 2002 a abril de 2003. Posteriormente, se reclutaron durante otro año, de mayo de 2003 a abril de 2004, otro grupo de pacientes que comenzaron tratamiento antirretroviral con AZT + 3TC (asociado como Combivir^R) y lopinavir/ritonavir (Kaletra^R). Las dosis de antirretrovirales fueron las especificadas en las fichas técnicas. En ambos casos se realizó el seguimiento durante 48 semanas finalizando el estudio en abril de 2005. El reclutamiento se realizó entre los enfermos ingresados en la Fundación Jiménez Díaz de Madrid o que acudieron a la consulta de enfermedades infecciosas durante el periodo de inclusión. La población a estudio fueron pacientes con infección por el VIH, previamente no tratados (*naïve*), con criterios diagnósticos de SIDA.

Criterios de inclusión:

- 1.- Enfermos con infección por el VIH y criterios de SIDA (según la clasificación de la CDC de 1993: menos de 200 CD4+ o con enfermedades diagnósticas de SIDA).
- 2.- Mayores de 18 años capaces de comprender y firmar un consentimiento informado.
- 3.- Previamente no tratados con ningún antirretroviral.

Criterios de exclusión:

- 1.- Embarazo o lactancia durante cualquier momento del estudio.
- 2.- Estar incluido en otro estudio con cualquier otro fármaco.
- 3.- Haber recibido tratamiento inmunomodulador o quimioterapia en los 30 días previos (excluyendo quimioterapia local para el sarcoma de Kaposi).
- 4.- Historia de neutropenia.
- 5.- Tener uno de los siguientes datos analíticos en el momento del inicio de estudio: hemoglobina < 9 gr/dL, neutrófilos < 1.000/ μ L, plaquetas < 50.000/ μ L, transaminasas más de 5 veces por encima del límite de la normalidad.
- 6.- Presencia de mutaciones de resistencia a alguno de los componentes de la triple terapia en un estudio genotípico de resistencias.
- 7.- El enfermo que, a juicio del investigador, no vaya a seguir el plan de seguimiento.

A excepción de los tratamientos inmunomoduladores y quimioterápicos se permitieron todos los tratamientos habituales para eventos oportunistas o no oportunistas del enfermo durante el periodo de estudio.

Previo al inicio del tratamiento se obtuvo un consentimiento informado por escrito. Las revisiones se hicieron a las 4, 8, 16, 32 y 48 semanas, además de visitas no programadas a criterio del investigador o a petición del enfermo. Se recogieron los datos clínicos y analíticos según el diagrama que se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1: Diagrama de seguimiento.

	Estudio previo	Día 0	Semanas 4, 8, 16, 32 y 48
Historia clínica	✓	✓	✓
Exploración física	✓	✓	✓
Estudios habituales del VIH ¹	✓		
Hemograma y VSG	✓	✓	✓
Bioquímica completa	✓	✓	✓
Perfil lipídico	✓	✓	✓
Sistemático de orina	✓	✓	✓
Test de embarazo ²	✓		
Test de resistencias ³	✓		✓
CD4+ y carga viral	✓	✓	✓
Estudio de reconstitución inmune	✓	✓	✓
Adherencia	✓	✓	✓
Densitometría ósea (en varones)	✓		✓

¹ El estudio habitual del VIH en la 1ª consulta que incluye radiografía de tórax, Mantoux, serología de hepatitis A, B y C, sífilis y toxoplasma. ² Mujeres en edad fértil. ³ Al principio del tratamiento y en caso de fracaso virológico.

Los efectos secundarios se valoraron según las escalas aceptadas por la Organización Mundial de la Salud. El síndrome de hipersensibilidad al abacavir y el síndrome de reconstitución inmune fueron diagnosticados por criterios clínicos de acuerdo con lo descrito en la literatura (65,66) según el juicio del investigador.

La adherencia al tratamiento se midió según número de recetas recogidas en la farmacia hospitalaria.

Se planteó la suspensión del tratamiento en las siguientes situaciones:

1.- Reacciones adversas severas, retirando el fármaco más probablemente implicado.

2.- Fracaso virológico, definido como una de las siguientes situaciones:

2.1.- El fracaso en alcanzar y mantener una reducción de la carga mayor de 0,5 logaritmos ó menor de 400 copias de RNA viral en la semana 16 de tratamiento y confirmado en los 14 días siguientes. En casos de mantener la carga viral entre 50 y 400 copias/mL en la semana 16 se pudo seguir con el tratamiento individualizando los casos según criterio médico y con la aceptación del enfermo.

2.2.- Rebote confirmado de la carga viral con incremento de más de 0,5 logaritmos desde el nadir de la carga viral alcanzado a las 16 semanas.

3.- A petición del enfermo o a juicio del investigador.

Los principales parámetros analizados fueron los siguientes:

1.- Porcentaje de fracaso virológico y momento del estudio en el que se produce.

2.- Evolución de las cifras de linfocitos CD4+.

2.- Tasas de adherencia al tratamiento.

3.- Progresión clínica por enfermedades oportunistas y muertes durante el estudio.

- 4.- Porcentaje de enfermos con efectos secundarios en los que se suspende el tratamiento por este motivo.
- 5.- Evolución de los siguientes parámetros de reconstitución inmune: marcadores de células *naïve* (CD45RA) y memoria (CD45RO), marcadores de activación celular (CD38, HLA-DR y CD25) y marcadores de apoptosis (CD95) en linfocitos T CD4+ y CD8+.
- 6.- Relación de parámetros clínicos o inmunológicos iniciales (edad, sexo, carga viral o CD4+, etc) con una adecuada reconstitución inmune.
- 7.- Porcentaje de pacientes con síndrome de reconstitución inmune o síndrome de hipersensibilidad al abacavir y relación con parámetros clínicos o inmunológicos.
- 8.- Densidad de masa ósea medida antes y tras 48 semanas de tratamiento en varones que completan un año con el mismo tratamiento y su relación con parámetros clínicos o inmunológicos.

El examen de la eficacia se evaluó por “intención de tratar” considerando fracaso tanto el fracaso virológico como la retirada del tratamiento por cualquier motivo y las pérdidas de seguimiento. También se evaluó la eficacia “en tratamiento” es decir de todos los pacientes que se mantenían con el tratamiento inicial al final de las 48 semanas del estudio.

Todos los pacientes fueron revisados personalmente por el autor de esta tesis. Se diseñó una base de datos con el programa *Access 97 (Microsoft)* para la recogida de datos y para la entrega de un informe al final de cada visita (Figura 1). Posteriormente se exportaron los datos al programa estadístico SPSS 11.0 para su análisis. Para la gestión de la bibliografía se usó el programa *RefWorks* facilitado *on line* por la Agencia Laín Entralgo usándose el formato Vancouver para su presentación.

Figura 1: Modelo de la hoja de recogida de datos.

Microsoft Access - [formulario de entrada : Formulario]

Archivo Edición Ver Insertar Formato Registros Herramientas Ventana ?

Microsoft Access Standard toolbar icons

Filiación

Id [ico] Fecha de nacimiento [] Teléfono [] Fact de riesgo []
 Nombre [] N° historia [] Fecha primoinfección []
 Dirección [] Sexo [] Fecha dgco HIV []
 Raza [] Estadio al dgco []
 fecha inicio Kaletra: [] Nuevo Registro Dgco SIDA []

AP enf oport serol profilaxis anamnesis EF hemo SMAC lípidos Inmunología orina imagen en resumen tratamiento revisión

Id [] CD4 CD95+ [] CD8+ CD28+: []
 Nombre [] CD8 CD95+ [] CD3-CD56+CD16+: []
 Día de tratamiento [0] CD4 CD45RA+ []
 Revisión [] CD4 CD45RO+ [] Sigue en to []
 Fecha [] CD8 CD45RA+ [] Otros []
 Tratamiento [] CD8 CD45RO+ [] Causa del cambio del tratamiento []
 CD4 [] CD4 CD38+ []
 % CD4 [] CD4 HLA-DR+ []
 Carga Viral [] CD4 CD25+ []
 Log de Carg [] CD8 CD38+ []
 CD8 [] CD8 HLA-DR+ []
 % CD8 [] CD8 CD25+ []

Registro: 1 de 1

Registro: 1 de 1

Registro: 1 de 1

Técnicas de laboratorio

Las muestras de sangre fueron estudiadas en fresco y marcadas con anticuerpos monoclonales frente a un panel de marcadores de activación y diferenciación, permitiendo la identificación de células *naïve* y memoria, células activadas o no activadas y marcadores de apoptosis de linfocitos T CD4+ y CD8+. La técnica utilizada fue la de inmunofluorescencia directa mediante citometría de flujo de tres colores. Los marcadores incluidos en el estudio fueron CD3, CD4, CD8, CD45RO, CD45RA, CD38, HLA-DR, CD25 y CD95. Se usó un citómetro de flujo FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA, U.S.A.) Los niveles de viremia ARN-VIH-1 en plasma se determinaron mediante RT-PCR (Ultrasensitive Roche Amplicor HIV monitor Versión 1.5). El punto de corte de detección fue el de 50 copias/mL de ARN-VIH-1 ($1,7 \log_{10}/\text{mL}$). Para el análisis de la bioquímica sanguínea, hemograma y serologías de hepatitis A, B y C se usaron técnicas estándar.

Estudio del metabolismo óseo

En el estudio de la masa ósea se estudiaron sólo pacientes varones para disminuir el sesgo que tiene el sexo en la densidad ósea. La DMO fue calculada por densitometría ósea con la técnica de absorciometría de rayos x de energía dual (DXA). Se calculó la DMO a nivel lumbar (L2-L4), cuello del fémur y radio distal usando un densitómetro Hologic QDR-1000/W. La densitometría fue realizada basalmente y tras un año de TARGA. Se usaron los criterios de la Organización Mundial de la Salud para definir la osteopenia y la osteoporosis según el cálculo del *t-score* que compara la DMO del paciente con adultos sanos españoles del mismo sexo y de 30 años de edad. Clasificamos a los pacientes en las siguientes categorías: normal: *t-score* > -1 desviaciones estándar (DS), osteopenia: *t-score* de -1 to -2.5 DS, y osteoporosis: *t-score* < -2.5 SD. El *t-score* del radio no pudo ser calculado por ausencia de datos de la

población española masculina. Las variables incluidas en el estudio fueron la edad, raza, peso, talla, índice de masa corporal (IMC), estadio clínico de la CDC, hábito tabáquico actual, consumo habitual de alcohol en gramos al día, otras medicaciones no relacionadas con el VIH, serología de hepatitis B y C, número de linfocitos CD4+ y CD8+, hemograma y bioquímica completa con perfil lipídico, albúmina y fosfatasa alcalina. Los pacientes que usaron esteroides durante más de 3 semanas durante el periodo de estudio o con periodos largos de inactividad en este periodo, calculado como estancias en cama durante más de dos semanas, fueron excluidos del estudio. Pacientes con cualquier cambio en la terapia antirretroviral o adherencia menor del 90% (calculado como la medicación recogida en la farmacia) fueron también excluidos. Se consideró un consumo moderado de alcohol el consumo entre 10 y 60 gramos de alcohol al día. Los pacientes con un consumo excesivo, considerado como >60 gramos al día, fueron igualmente excluidos del análisis final.

Análisis estadístico.

Las variables cualitativas se presentan como proporciones y las variables cuantitativas como medias \pm desviación estándar o como medianas \pm intervalo intercuartílico (IIC) cuando las variables no seguían una distribución normal. Las comparaciones entre variables cuantitativas se realizaron con test no paramétricos para variables relacionadas o no relacionadas cuando correspondía. La comparación entre variables cualitativas se realizó con el test de la chi-cuadrado o el test de Fisher cuando era necesario.

Se realizaron modelos de regresión lineal para determinar las variables relacionadas de forma independiente con la variación de CD4+ tras 16 y 48 semanas de tratamiento. Se realizó un modelo de regresión logística para determinar las variables asociadas a un incremento mayor o menor de 100 CD4+ al final del tratamiento.

Se realizaron dos análisis de supervivencia evaluando el tiempo hasta el fracaso del tratamiento (suspensión o cambio del tratamiento por cualquier motivo o pérdida = fracaso) y el tiempo hasta el fracaso virológico (sin considerar fracasos por efectos secundarios ni pérdidas del tratamiento). Este análisis de supervivencia se realizó con curvas de Kaplan Meyer usando Log Rank como test estadístico comparativo de cada tratamiento.

Para el estudio de la osteoporosis se realizaron dos modelos de regresión lineal. Uno para determinar los factores asociados con la masa ósea en cada una de las tres localizaciones (columna lumbar, cuello del fémur y radio distal) previo al inicio del tratamiento y otro para determinar los factores asociados de forma independiente a la variación de la masa ósea tras un año de tratamiento. Se consideró en todos los casos un nivel de significación estadística de $p < 0,05$.

Los estudios estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS 11.0.

RESULTADOS

Características basales.

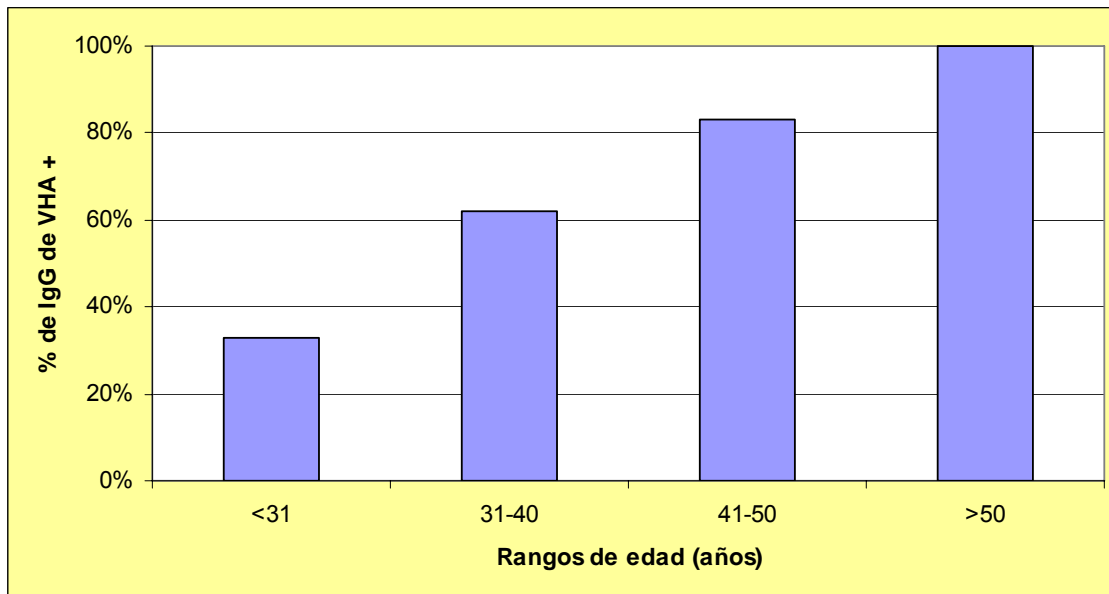
88 pacientes realizaron el *screening* inicial. 3 pacientes tenían mutaciones primarias a alguno de los fármacos del régimen y fueron excluidos, 7 no llegaron a realizar la visita de inicio y 1 paciente denegó el consentimiento. Finalmente, 77 pacientes fueron incluidos en el estudio: 43 pacientes iniciaron tratamiento con AZT, 3TC y ABC y 34 pacientes iniciaron tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir. Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 2. Globalmente considerados el 90% de los pacientes eran varones y la edad media fue de $40 \pm 8,8$ años siendo el mínimo de 24 y el máximo de 62 años. El 67,5% de los pacientes eran caucásicos y el 30% latinoamericanos. El grupo de riesgo más frecuente de adquisición del VIH fueron los homosexuales (67,5%), seguido de los heterosexuales (19,5%) y de los adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) (11,5%). Un 21% de los pacientes tenían una serología positiva al virus de la hepatitis C y un 2,6% presentaban un antígeno de superficie de la hepatitis B positivo (Ag HBs).

El 81% de los pacientes tenían serología positiva IgG al virus de la hepatitis A. En los pacientes caucásicos la prevalencia de serología positiva para la hepatitis A (IgG) tendía a ser menor que en los pacientes de otro origen (74% vs. 95%, $p=0,17$). La prevalencia de IgG + para el virus de la hepatitis A aumentaba directamente con la edad en los pacientes de origen caucásico (Figura 2).

Tabla 2. Características demográficas basales.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, lop/rit	p
n	43	34	
Edad media (años)	40,6 ± 8,5	39,3 ± 9,2	ns
% mujeres	14%	6%	ns
Raza			
Caucásico	70%	65%	ns
Latinoamericano	28%	32%	ns
otros	2%	3%	ns
Factor de riesgo			
ADVP	14%	9%	ns
Homosexual	61%	76%	ns
Heterosexual	23%	15%	ns
Desconocido	2%	0%	ns
Estadio CDC			
A	26%	35%	ns
B	16%	24%	ns
C	58%	41%	ns
Ag HBs +	2,3%	3%	ns
Ac VHC +	18,6%	23,5%	ns

Figura 2. Prevalencia de serología positiva al VHA (IgG) en la población de pacientes de origen caucásico.



El 51% de los pacientes tenía un estadio C de la CDC (*Center for Diseases Control*), el 19,5% un estadio B y el 30% un estadio A sin existir diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento. Los criterios diagnósticos de SIDA en cada grupo se muestran en la Tabla 3.

Las características virológicas e inmunológicas basales según el tratamiento de inicio se muestran en la Tabla 4. La mediana de linfocitos CD4+ globalmente fue de 121 células/ μ L (IIC: 42-178) y la carga viral de 5,2 logaritmos (IIC: 4,8-5,7). No hubo diferencias significativas en el número absoluto de CD4+, de CD8+ ni en la carga viral basal entre ambos grupos de pacientes. Sin embargo, la población de linfocitos activados que expresan CD38 y los marcadores de apoptosis CD95 fueron mayores tanto en linfocitos CD4+ como en CD8+ en los pacientes seleccionados para comenzar tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir que también presentaron un mayor porcentaje de la población de linfocitos CD4+ con fenotipo *naïve* (Tabla 4).

No se encontraron relaciones entre la cifra de CD4+ o de CD8+ y la edad, el grupo de riesgo, la raza, el sexo, la co-infección por el VHB o VHC o la presencia de enfermedades diagnósticas de SIDA. Tampoco hubo diferencias entre la carga viral y ninguna de estas variables salvo el sexo, pues la carga viral de las mujeres fue significativamente menor que la de los hombres (4,7 vs. 5,3 logs, $p=0,036$).

Aunque no hay un grupo control para evaluar las proporciones normales de marcadores inmunológicos se comprobó que, con respecto a lo descrito en la literatura, los marcadores de activación inmunológicos CD38 y HLA-DR estaban por muy por encima de los límites normales que son menores al 5% en CD4+ y CD8+ (67). Por el contrario, el porcentaje de linfocitos CD4+ y CD8+ que expresan CD25 estaba muy disminuido respecto a lo descrito en pacientes no infectados donde este porcentaje se sitúa alrededor del 40% en linfocitos CD4+ y del 6% en CD8+ (46). El porcentaje de la

población de linfocitos CD4+ *naïve* era inferior a lo descrito en pacientes sin infección por VIH y el porcentaje de CD4+ memoria era superior (68). Los marcadores de apoptosis, que en la población no infectada están en torno al 50% en CD4+ y CD8+ (49), en nuestra serie están aumentados, especialmente en los pacientes que iniciaron el tratamiento con IP.

Tabla 3. Criterios diagnósticos de SIDA previos al inicio del tratamiento.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, lop/rit
n	43	34
CD4+ < 200/μL	18 (41,9%)	20 (58,8%)
TBC*	8 (18,6%)	---
Sarcoma de Kaposi	7 (16,3%)	5 (14,7%)
PCP	4 (9,3%)	5 (14,7%)
Neumonías de repetición	3 (7%)	1 (2,9%)
MAI	1 (2,3%)	1 (2,9%)
Meningitis criptocócica	1 (2,3%)	---
Toxoplasmosis cerebral	1 (2,3%)	---
Candidiasis esofágica	---	2 (5,9%)

* En el grupo con IP no se incluyeron pacientes con TBC por su interacción con rifampicina.

Tabla 4. Características inmunológicas y virológicas basales.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, lop/rit	p
n	43	34	
CD4+	137 (47-190)	120 (25-175)	ns
% de CD4+	8 (5-14)	8 (3,5-14)	ns
CD8+	855 (440-1245)	708 (364-994)	
% de CD8+	60 (54-68)	62 (42-71)	
Carga viral (logs)	5,3 (4,8-5,8)	5,1 (4,8-5,4)	ns
Activación de CD4+			
CD4+CD38+	43 (27-72)	70 (63-86)	0,001
CD4+HLA-DR+	39 (21-51)	37 (27-82)	ns
CD4+CD25+	11 (5,5-17,5)	8 (1-17)	ns
Activación de CD8+			
CD8+CD38+	65 (43-91)	89 (77-93)	0,006
CD8+HLA-DR+	41 (31-49)	46 (38-55)	ns
CD8+CD25+	1 (0,05-2,75)	1 (1-3)	ns
Células <i>naïve</i>			
CD4+ CD45 RA+	22,5 (11-29)	38 (22-54)	0,015
CD8+ CD45 RA+	47,5 (37-56)	62 (40-70)	ns
Células memoria			
CD4+ CD45 RO+	80 (73-90)	84 (70-89)	ns
CD8+CD45 RO+	53,5 (41-63)	53 (35-69)	ns
Apoptosis			
CD4+CD95+	67 (42-88)	86 (61-99)	0,06
CD8+CD95+	58 (31-87)	78 (58-95)	0,006

Las cifras entre paréntesis muestran el intervalo intercuartílico.

Correlaciones basales de CD4+, CD8+ y carga viral con marcadores inmunológicos.

Se analizaron las correlaciones basales de las poblaciones de linfocitos CD4+ y CD8+ y la carga viral con las poblaciones de linfocitos *naïve* y memoria, los marcadores de activación y los marcadores de apoptosis (Tabla 5). Se observó una correlación fuerte y significativa entre la cifra absoluta de CD4+ y de CD8+ ($r:0,677$, $p<0,0001$). La cifra absoluta de CD4+ no se correlacionó de forma significativa con la población de células *naïve* o memoria ni con los marcadores de apoptosis tanto de CD4+ como de CD8+. Por el contrario sí se observó una relación significativa con los marcadores de activación. Destacaba una relación directa entre la cifra absoluta de CD4+ con el porcentaje de CD4+ CD25+ y una relación inversa con el porcentaje de CD4+ CD38+ y CD4+ HLA-DR+. También la correlación fue directa con el porcentaje de CD8+ HLA-DR+ e inversa con CD8+ CD38+. La correlación de los CD4+ y la carga viral fue directa pero más débil que con los marcadores inmunológicos.

La población de CD8+ se relacionó de forma directa con el porcentaje de CD4+ CD25+ y de forma inversa con el porcentaje de población CD4+ CD38+.

La carga viral se relacionó de forma directa con el porcentaje de CD8+ CD38+.

En el análisis multivariante los factores relacionados con la cifra absoluta de CD4+ basal de forma independiente fueron de forma directa la cifra absoluta de CD8+ ($\beta: 0,124$, IC95%: 0,073-0,177, $p<0,0001$) y de forma inversa el porcentaje de CD8 CD38+ ($\beta: -1,76$, IC95%: -2,94 a -0,59, $p=0,004$) con una R^2 ajustada de 0,382.

Tabla 5: Correlaciones basales entre CD4+, CD8+ y carga viral con marcadores inmunológicos.

	CD4+ totales	% CD4+	Carga Viral	CD8+ totales	% CD8+
CD4+		0,819 (p:0,000)	-0,175 (p:0,100)	0,677 (p:0,000)	0,203 (p:0,062)
% CD4+	0,819 (p:0,000)		-0,184 (p:0,087)	0,256 (p:0,017)	
Carga Viral	-0,175 (p:0,100)	-0,184 (p:0,087)			
CD8+ totales	0,677 (p:0,000)	0,256 (p:0,017)			0,642 (p:0,000)
% CD8+	0,203 (p:0,062)			0,642 (p:0,000)	
% CD4+ CD45RA+		0,252 (p:0,059)			
% CD4+ CD45RO+	-0,178 (p:0,188)			-0,176 (p:0,199)	-0,245 (p:0,077)
% CD8+ CD45RA+					
% CD8+ CD45RO+		0,180 (p:0,182)		-0,220 (p:0,104)	
% CD4+ CD38+	-0,460 (p:0,000)	-0,383 (p:0,003)	0,179 (p:0,178)	-0,308 (p:0,020)	
% CD4+ HLA-DR+	-0,326 (p:0,013)	-0,394 (p:0,002)		-0,178 (p:0,190)	
% CD4+ CD25+	0,332 (p:0,015)	0,318 (p:0,020)		0,317 (p:0,022)	0,362 (p:0,010)
% CD8+ CD38+	-0,351 (p:0,007)	-0,356 (p:0,006)	0,262 (p:0,047)		
% CD8+ HLA-DR+	0,297 (p:0,026)	0,327 (p:0,014)			
% CD8+ CD25+		0,193 (p:0,174)			
% CD4+ CD95+					
% CD8+ CD95+					0,190 (p:0,173)

Correlaciones basales entre las poblaciones *naïve* y memoria de CD4+ y CD8+ y los marcadores de activación y apoptosis.

El porcentaje de CD4+ y CD8+ *naïve* (que expresaban CD45RA+) se correlacionaron de forma inversa con el porcentaje de CD4+ y CD8+ memoria respectivamente (CD45RO+) con $r: -0,604$ y $r: -0,638$ ($p < 0,0001$ en ambos casos), (Tabla 6). También se objetivó una correlación directa más débil entre la población de CD4+ *naïve* y CD8+ *naïve* así como entre la de CD4+ memoria y CD8+ memoria. La población de CD4 CD45RA+ también se relacionó de forma directa aunque débil con el porcentaje de CD4 CD38+ sin hallarse relaciones con otros marcadores de activación. Tampoco hubo relaciones significativas entre las células *naïve* y memoria con marcadores de apoptosis (Tabla 6).

Tabla 6. Correlaciones basales entre las poblaciones *naïve* y memoria de CD4+ y CD8+ y los marcadores de activación y apoptosis.

	% CD4+ CD45RA+	% CD4+ CD45RO+	% CD8+ CD45RA+	% CD8+ CD45RO+
% CD4+ CD45RA+		-0,604 (p:0,000)	0,473 (p:0,000)	
% CD4+ CD45RO+	-0,604 (p:0,000)		-0,323 (p:0,015)	0,376 (p:0,004)
% CD8+ CD45RA+	0,473 (p:0,000)	-0,323 (p:0,015)		-0,638 (p:0,000)
% CD8+ CD45RO+		0,376 (p:0,004)	-0,638 (p:0,000)	
% CD4+ CD38+	0,272 (p:0,040)			
% CD4+ HLA-DR+				
% CD4+ CD25+				
% CD8+ CD38+	0,172 (p:0,200)		0,195 (p:0,146)	
% CD8+ HLA-DR+				
% CD8+ CD25+				
% CD4+ CD95+			0,218 (p:0,109)	
% CD8+ CD95+				

Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD4+ y marcadores de activación de CD8+ y apoptosis.

Se encontró una correlación directa entre los marcadores CD38+, HLA-DR+ y CD25+ en los CD4+ y los mismos marcadores de activación en la población de CD8+ (Tabla 7).

Es interesante destacar que los CD4 CD38+ se relacionaron de forma directa con los marcadores de apoptosis CD95+ tanto en CD4+ como en CD8+.

Tabla 7: Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD4+ y marcadores de activación de CD8+ y apoptosis.

	% CD4 CD38+	% CD4 HLA-DR+	% CD4 CD25+
% CD4+ CD38+			
% CD4+ HLA-DR+			
% CD4+ CD25+			
% CD8+ CD38+	0,798 (p:0,000)		
% CD8+ HLA-DR+		0,297 (p:0,026)	0,228 (p:0,104)
% CD8+ CD25+			0,550 (p:0,000)
% CD4+ CD95+	0,601 (p:0,000)		
% CD8+ CD95+	0,499 (p:0,000)		

Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD8+ y marcadores de activación de CD4+ y apoptosis.

Al igual que pasaba con la población CD4 CD38+ y la apoptosis, el porcentaje de células CD8 CD38+ se correlacionan de forma directa con los marcadores de apoptosis CD95+ tanto en CD4+ como CD8+ (Tabla 8).

Tabla 8: Correlaciones basales entre marcadores de activación de CD8+ y marcadores de activación de CD4+ y apoptosis.

	% CD8 CD38+	% CD8 HLA-DR+	% CD8 CD25+
% CD4+ CD38+	0,798 0,000		
% CD4+ HLA-DR+		0,297 0,026	
% CD4+ CD25+		0,228 0,104	0,550 0,000
% CD8+ CD38+			
% CD8+ HLA-DR+			0,362 0,010
% CD8+ CD25+		0,362 0,010	
% CD4+ CD95+	0,447 0,001		
% CD8+ CD95+	0,615 0,000		

Fracasos de tratamiento.

A las 48 semanas de tratamiento, la proporción de pacientes con carga viral menor de 50 copias HIV-1/mL en un análisis “por intención de tratar” (suspensión o cambio del tratamiento por cualquier motivo o pérdida = fallo) fue del 44,2% (19 de 43 pacientes) en el grupo de 3 análogos y del 64,7% (22 de 34 pacientes) en el grupo con IP, estando estas diferencias en el límite de la significación ($p=0,072$). En el análisis “en tratamiento” un 73,1% de los pacientes con 3 análogos al final del periodo de estudio tenía un carga viral menor de 50 copias HIV-1/mL (19 de 26 pacientes) frente al 95,7% de los pacientes del grupo de lopinavir/ritonavir (22 de 23) siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p=0,011$).

En el grupo de AZT, 3TC, ABC un 35% de los pacientes sufrió un fracaso virológico (15 de 43 pacientes). En 5 casos de los 15 pacientes con fracaso virológico se pudo atribuir el fracaso a una adherencia menor del 90%. Sin embargo, 10 de esos 15 pacientes fracasaron a pesar de tener una adherencia mayor del 90%. Por otro lado, En el grupo con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir 3 de los 34 pacientes (8,8%) sufrió un fracaso virológico pero en todos los casos asociada a una mala adherencia al tratamiento (inferior al 90% de la medicación). No hubo diferencias significativas entre los pacientes con mala adherencia con 3 análogos (11,6%) y los que tuvieron mala adherencia con IP (9,6%), $p=0,67$. No hubo relación significativa en ningún grupo entre el fracaso virológico y una alta carga viral inicial.

Un 18,6% de los fracasos del tratamiento con 3 análogos fueron por efectos adversos (8 de 43 pacientes) frente al 20,6% de los fracasos por efectos adversos del grupo de IP (7 de 34 pacientes) sin diferencias significativas entre ellos ($p=0,83$). Los efectos adversos que causaron suspensión del tratamiento en el grupo de 3 análogos fueron hipersensibilidad en 5 casos (11,6% del total de pacientes), anemia en 2 casos (4,7%) e

intolerancia digestiva en 1 paciente (2,3%). En el grupo de los IP 7 de los 34 pacientes suspendieron el tratamiento precozmente por efectos adversos: 4 fueron por intolerancia digestiva (11,8% de los 34 en tratamiento), 2 por hepatitis (5,9%) y 1 por anemia (2,9%). La evolución de los pacientes de cada grupo se resume en las figuras 3 y 4. Se realizó un análisis de supervivencia estudiando el tiempo hasta el fracaso por cualquier motivo (figura 5). En este análisis existe tendencia a una mejor evolución en el grupo con lopinavir (Log Rank= 0,13). Se realizó una segunda curva de supervivencia teniendo en cuenta sólo los fallos en el tratamiento por fracaso virológico (figura 6). Se concluyó que el tiempo hasta el fracaso virológico era significativamente menor en el grupo con 3 análogos (Log Rank= 0,011).

Figura 3. Evolución de los pacientes en tratamiento con AZT, 3TC y ABC.

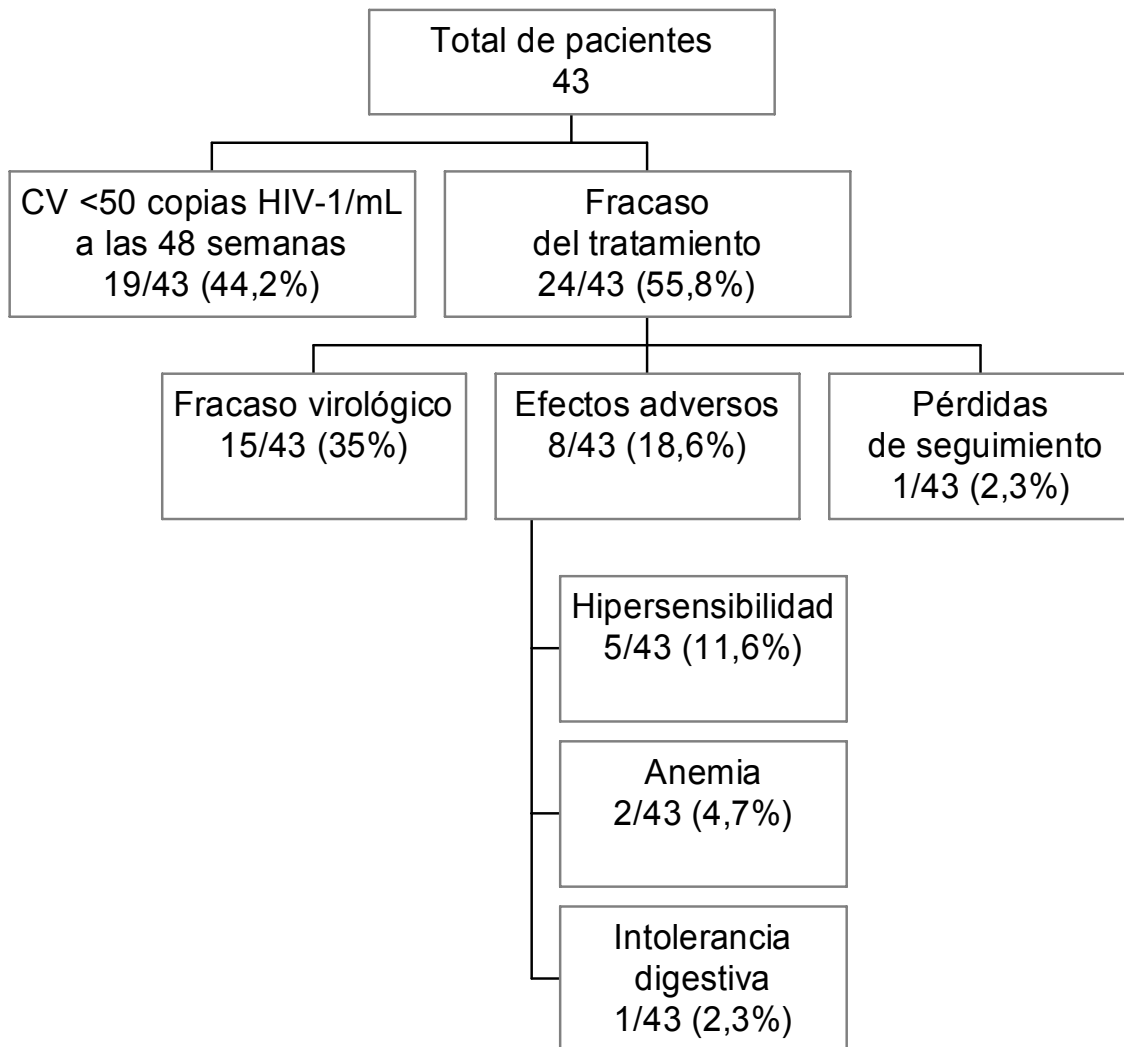


Figura 4. Evolución de los pacientes en tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.

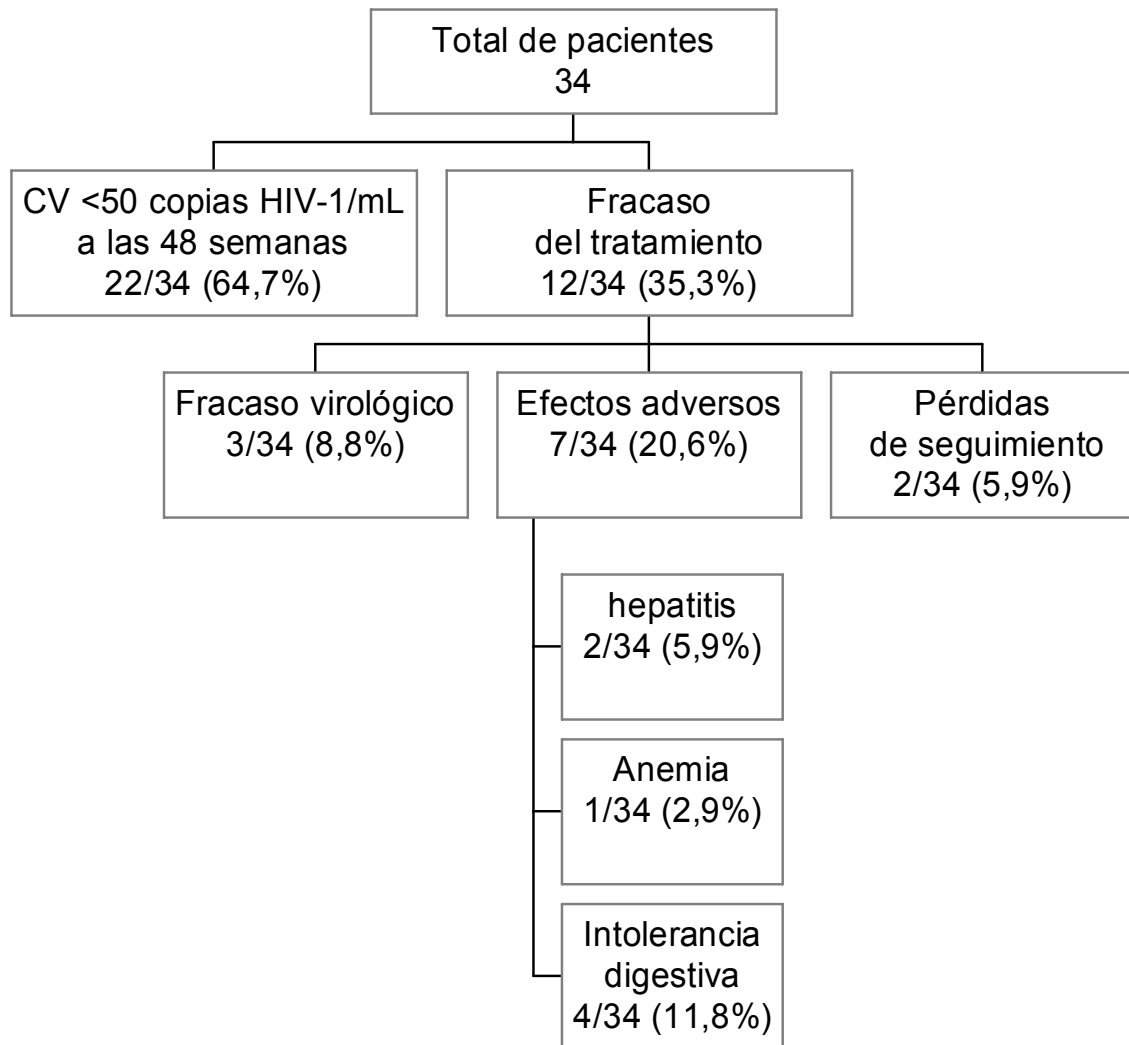


Tabla 9. Causas de fracaso del tratamiento.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, lop/rit	p
n	43	34	
Fracasos por cualquier causa	24/43 (55,8%)	12/34 (35,3%)	0,073
Fracaso virológico	15/43 (35%)	3/34 (8,8%)	0,013
Fracaso por efectos adversos	8/43 (18,6%)	7/34 (20,5%)	ns
Pérdidas	1/43 (2,3%)	2/34 (5,9%)	ns

Figura 5. Curva de supervivencia: tiempo hasta el fracaso del tratamiento (suspensión o cambio del tratamiento por cualquier motivo o pérdida = fracaso). Log Rank: 0,13.

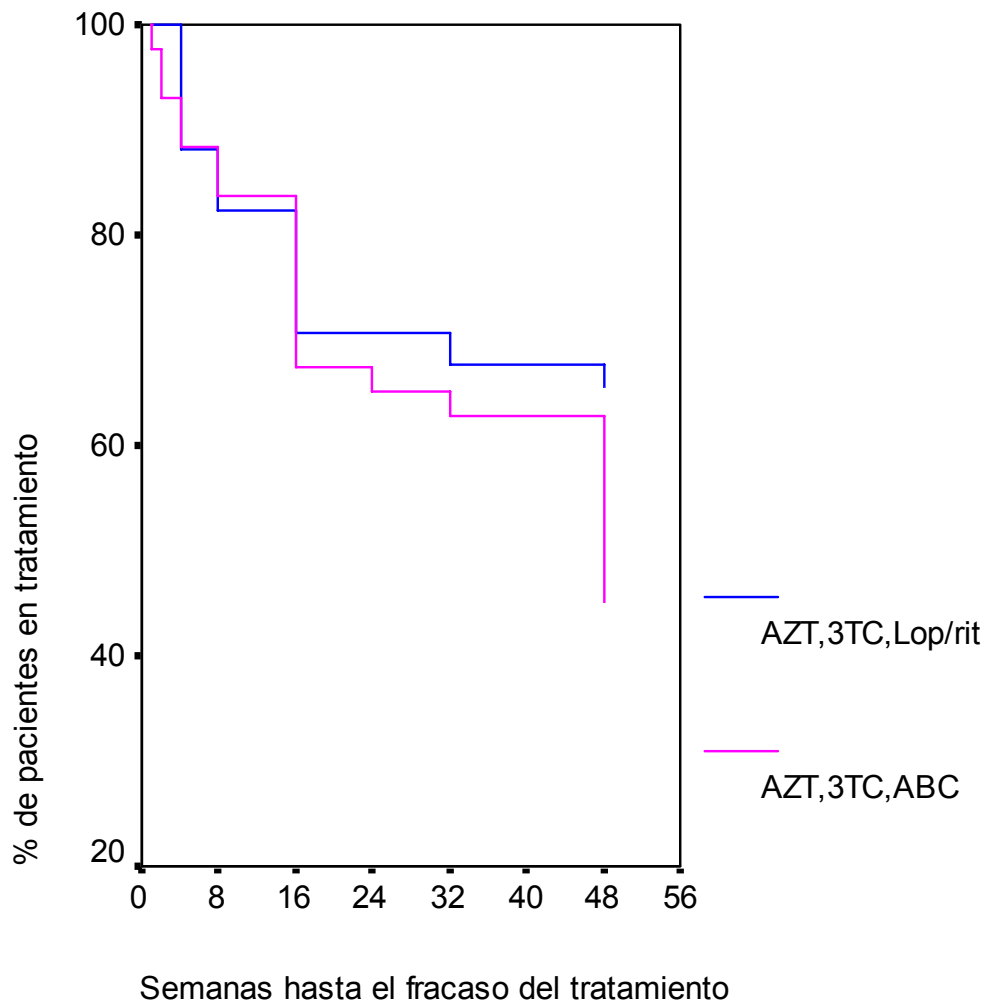
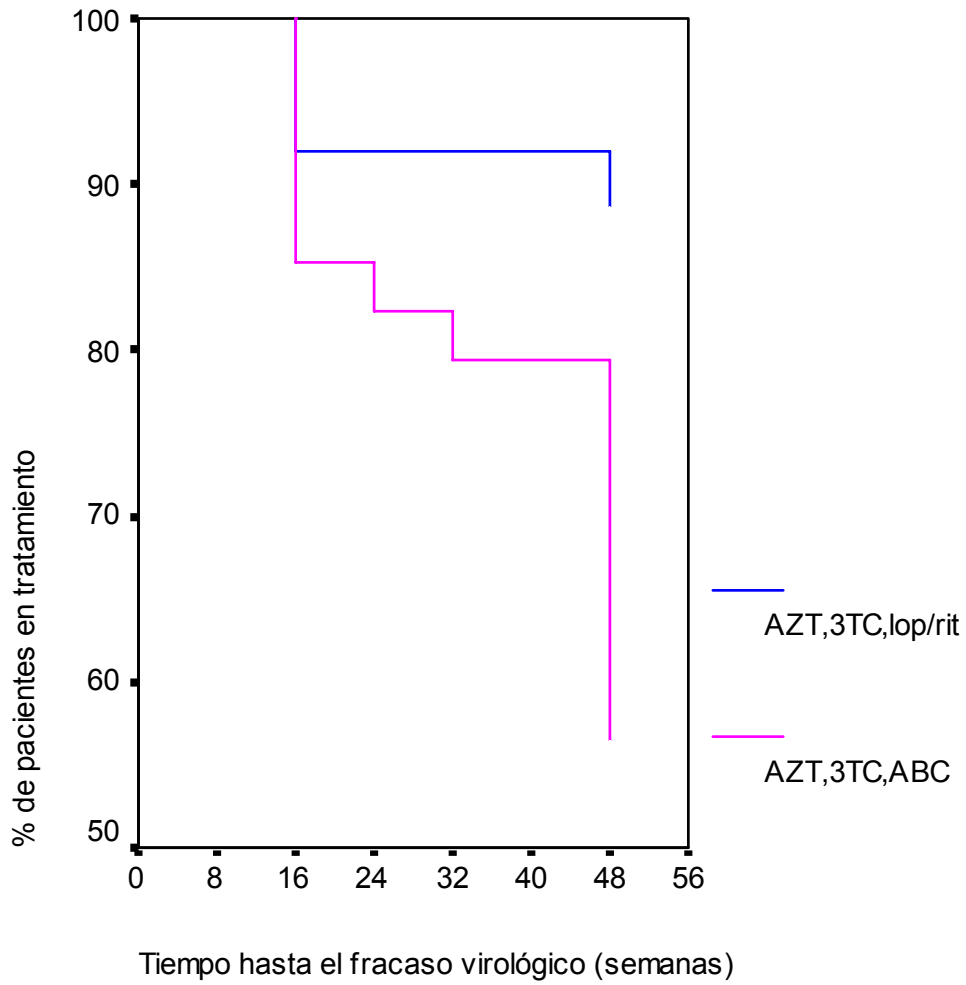


Figura 6. Curva de supervivencia: tiempo hasta el fracaso virológico. Log Rank= 0,011.



Reacciones de hipersensibilidad y síndrome de reconstitución inmune.

En el grupo de tratamiento con ABC se produjo una sospecha de reacción de hipersensibilidad en 5 de 43 pacientes (11,6%): 4 hombres y 1 mujer. Los casos cursaron con fiebre y exantema entre 1 y 14 días tras el inicio del tratamiento. Cabe destacar que uno de los casos cursó además con grandes adenopatías laterocervicales (Figura 7) remedando un síndrome de reconstitución inmune (69). En todos los pacientes la recuperación fue rápida tras la retirada de la medicación. No se encontró ninguna variable que se relacionara con el desarrollo de reacción de hipersensibilidad y pudiera predecir su aparición. Hay que tener en cuenta que antes del inicio del estudio no se conocía la asociación entre factores genéticos, como el HLA-B*5701, y el desarrollo de hipersensibilidad al ABC (70).

Respecto al síndrome de reconstitución inmune 4 pacientes del grupo de 3 análogos y 1 con IP fueron diagnosticados de esta entidad tras el inicio del tratamiento. En el grupo de 3 análogos, 2 pacientes empeoraron severamente de una TBC ganglionar diagnosticada simultáneamente a la infección por VIH, otro paciente desarrolló una TBC ganglionar a los 2 meses del inicio del tratamiento y otro sufrió un empeoramiento de una neumonía por *Pneumocystis jiroveci*. El caso de reconstitución inmune con IP fue un caso de infección metamérica por herpes zoster al mes del inicio del tratamiento. Hay que recordar que ningún paciente con TBC fue incluido en el grupo de IP por las interacciones con los tuberculostáticos. Se detectaron dos parámetros basales asociados al desarrollo de síndrome de reconstitución inmune: una carga viral alta y un porcentaje alto de CD8+ que expresaban el marcador de célula memoria CD45RA+. La carga viral basal fue de mediana 484.500 copias de VIH-1/mL (5,6 logs, IIC: 5,4 - 5,9) en los pacientes que desarrollaron el SRI frente a 142.000 copias VIH-1/mL (5,1 logs; IIC: 4,7-5,6,) en los que no lo desarrollaron ($p=0,037$) e igualmente el porcentaje de CD8+CD45RA+ fue del 69%

(IIC: 63-88) en los que desarrollaron el SRI frente al 53% (IIC: 39-65) en los que no lo desarrollaron ($p=0,021$). También el número absoluto de CD8+ tendió a ser mayor en los que desarrollaron el SRI ($p=0,071$). En el estudio multivariante sólo el porcentaje de CD8+CD45RA+ permaneció como factor independiente asociado al SRI aunque el valor de este estudio es muy limitado por el escaso número de casos con el evento.

Figura 7. Reacción de hipersensibilidad a abacavir con grandes adenopatías latero-cervicales.



Evolución de la población de linfocitos CD4+ y CD8+ con TARGA.

Tras un año de tratamiento se produjo un aumento significativo de CD4+ siendo la mediana de este incremento de CD4+ de 153 linfocitos CD4+/ μ L (IIC: 76-258), $p < 0,0001$. El incremento fue máximo en los primeros 4 meses de tratamiento y fue más lento en los meses sucesivos (Figura 8). El incremento de CD4+ fue significativo en ambos grupos de tratamiento ($p < 0,0001$). En los pacientes con 3 análogos la mediana del incremento de linfocitos CD4+ fue de 138 (IIC: 68-232) células/ μ L y tendió a ser inferior a la mediana del incremento de CD4+ en el grupo con IP que fue de 159 células/ μ L (IIC: 92-308), $p = 0,10$. Teniendo en cuenta sólo los pacientes con carga viral indetectable al final del periodo de estudio el incremento de CD4+ fue de 136 células/ μ L (IIC: 57-219) en el grupo de de 3 análogos frente a 153 células/ μ L (IIC: 87-302) en el grupo de IP aunque las diferencias no fueron significativas ($p = 0,41$). La evolución de la mediana de CD4+ y del % de CD4+ a lo largo del estudio se muestra en las figuras 8, 9, 10 y 11.

En el estudio univariante la ganancia de CD4+ al año se relacionó de forma directa con el porcentaje basal de CD8+CD25 (r: 0,384; $p = 0,028$) y de forma inversa con la cifra absoluta de CD4+ (r: -0,312; $p = 0,022$) y de CD8+ (r: -0,343; $p = 0,012$). También se asoció de forma directa con el incremento de CD4+ a los 4 meses del tratamiento (r: 0,687, $p < 0,0001$), de forma inversa con el cambio de CD8+CD25+ en el mes 4 (r: -0,444, $p = 0,038$) y, en el límite de la significación, con el cambio en el porcentaje de CD8+CD38+ tras un año de tratamiento (r: -0,318; $p = 0,076$). No hubo correlación con el sexo, la edad u otras variables clínicas y el incremento de CD4+ tras 12 meses de tratamiento en el estudio univariante.

En el estudio multivariante, incluyendo sólo las variables disponibles en el momento basal, el incremento de CD4+ al año de tratamiento se asoció con el tratamiento con lopinavir/ritonavir y con el porcentaje basal de CD8+ CD25+ aunque explica débilmente el

modelo (R^2 ajustado: 0,263), (Tabla 10). Añadiendo al modelo el incremento de CD4+ a los 4 meses, el tratamiento con lopinavir/ritonavir y el porcentaje basal de CD8+CD25+ se conforma un modelo que explica el 55% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado: 0,50). A su vez, el incremento de CD4+ a los 4 meses se asoció, en el estudio univariante con el porcentaje de CD8+ HLA-DR+ (r :-0,344; p =0,032), con CD4+CD95+ (r :-0,319; p =0,047) y CD8+ CD95+ (r :-0,381; p =0,017) y tendía a estar asociado con la carga viral (r : 0,180, p = 0,16) y con los CD8+ CD25+ (r :0,260; p =0,12). En el estudio multivariante, el incremento de CD4 a los 4 meses de tratamiento se asoció de forma directa con la carga viral basal y con el porcentaje basal de CD8+CD25+ e inversamente con el número de CD8+ HLA-DR+, (Tabla 11).

También se estudiaron los factores asociados a un incremento de CD4+ menores de 100 células/ μ L al año de tratamiento para tratar de indentificar precozmente a los pacientes con una respuesta pobre al tratamiento. Basalmente, en el estudio univariante, solamente unos CD4+ basales altos predecían que los pacientes iban a ganar menos de 100 CD4+/ μ L al año de tratamiento (p =0,022). Ningún otro factor inmunológico o clínico basal se asoció con una pobre respuesta. Tras un año de tratamiento los pacientes con un mayor descenso del porcentaje de CD8+CD38+ fueron los que tuvieron más posibilidades de tener un incremento de CD4+ mayores de 100 células/ μ L. Efectivamente los pacientes con un incremento de CD4+ mayores de 100 experimentaron un descenso en la mediana del porcentaje de CD8+CD38+ de -15% (IIC:: -32 a 2,5), mientras que aquellos con menos de 100 CD4+ de incremento de CD4+ la variación fue de +12% (IIC: -0,5 a 24), p :0,011 (Figura 12). En el estudio multivariante de regresión logística se mantiene la disminución de la activación de CD8+, medida como descenso del porcentaje de CD8+CD38+, como la única variable independiente (OR: 0,874, 95% IC: 0,778 a 0,982, p :0,023) asociada a un incremento mayor de 100 CD4+ tras un año de TARGA.

Respecto a la población de linfocitos CD8+, su número absoluto se incrementó de forma significativa ($p= 0,044$). El incremento siguió una cinética similar a los CD4+ con un incremento máximo durante los primeros 4 meses de tratamiento. El incremento fue similar en ambos grupos de tratamiento (Figuras 13 y 14). Curiosamente aunque el número absoluto de CD8+ tendió a subir su porcentaje respecto al total de linfocitos bajó de forma significativa ($p=0,044$) (figuras 15 y 16) lógicamente asociado al incremento en el porcentaje de linfocitos CD4+.

Figura 8: Evolución de la mediana de CD4+ en pacientes que iniciaron tratamiento con AZT, 3TC y ABC o lopinavir/ritonavir.

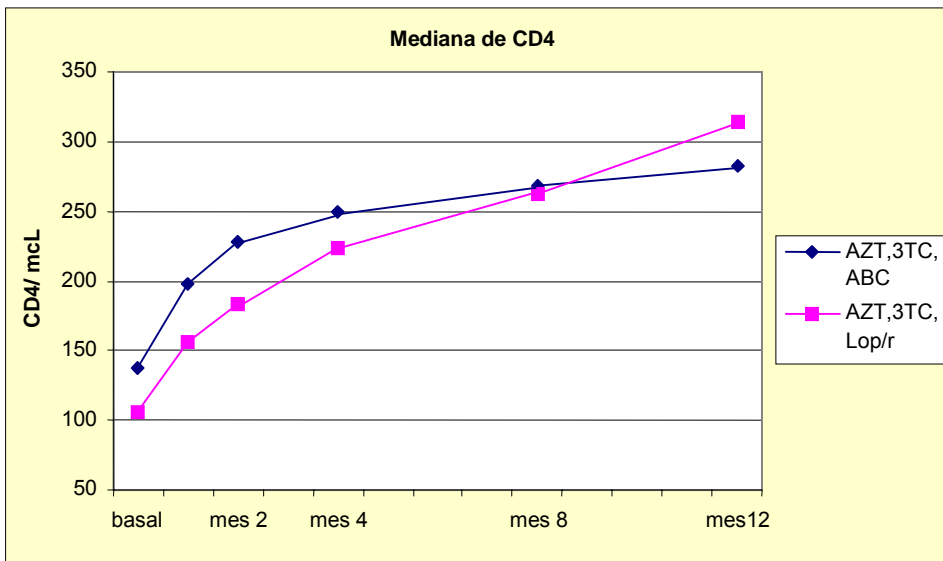


Figura 9: Evolución de la mediana de CD4+ en pacientes con AZT, 3TC y ABC o lopinavir/ritonavir que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

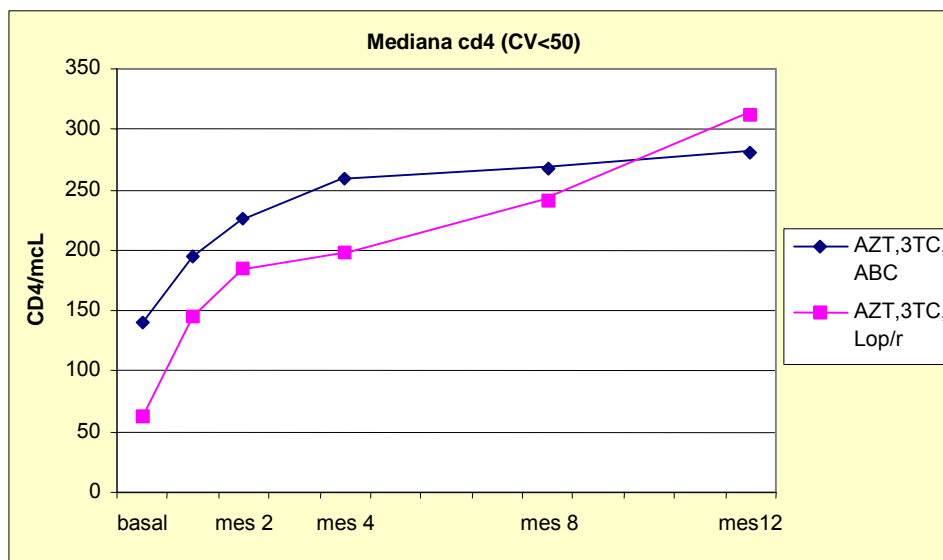


Figura 10: Evolución de la mediana del porcentaje de CD4+.

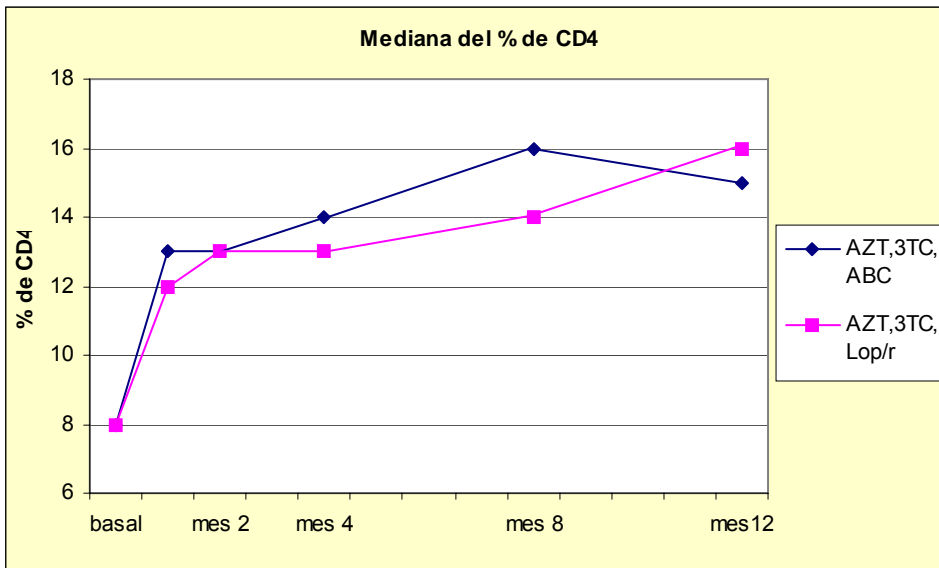


Figura 11: Evolución de la mediana del porcentaje de CD4+ en los pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

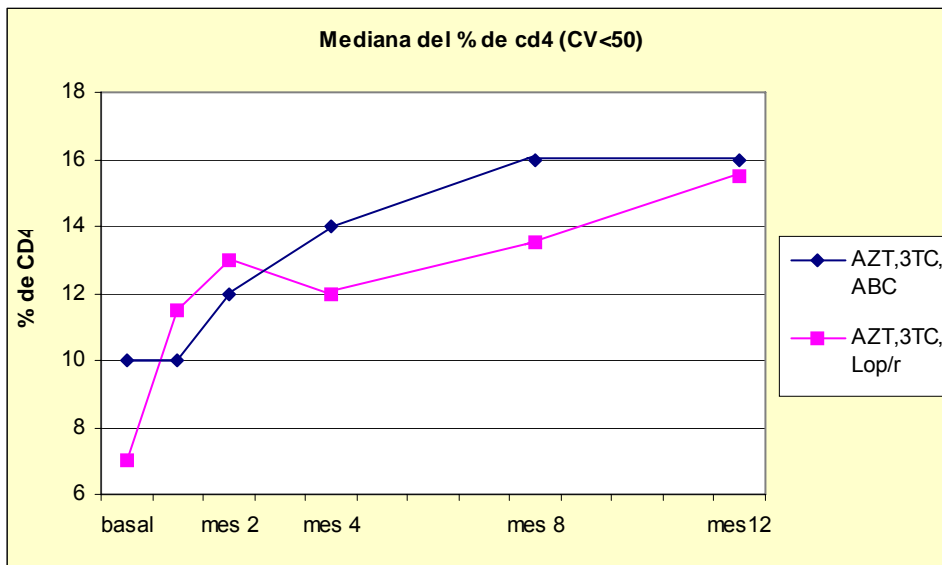


Tabla 10. Variables asociadas en el estudio multivariante con el incremento de CD4+ a los 12 meses (R^2 ajustado: 0,263).

	β	IC 95%	p
Tratamiento lopinavir/ritonavir	131	42 a 220	0,005
CD8+ CD25+ (%)	9,07	2 a 16	0,012

Tabla 11. Variables asociadas en el estudio multivariante con el incremento de CD4+ a los 4 meses (R^2 ajustado: 0,330).

	β	IC 95%	p
Carga viral basal (Logs)	56	6,6 a 106	0,028
CD8 + CD25+basal (%)	8,3	2,8 a 13,9	0,004
CD8+ HLA-DR+ (%)	-2,6	-4,5 a -0,8	0,006

Figura 12. Variación de la activación de CD8+ medida como CD8+CD38+ en los pacientes con incrementos mayores o menores de 100 CD4+ tras un año de tratamiento (p:0,011).

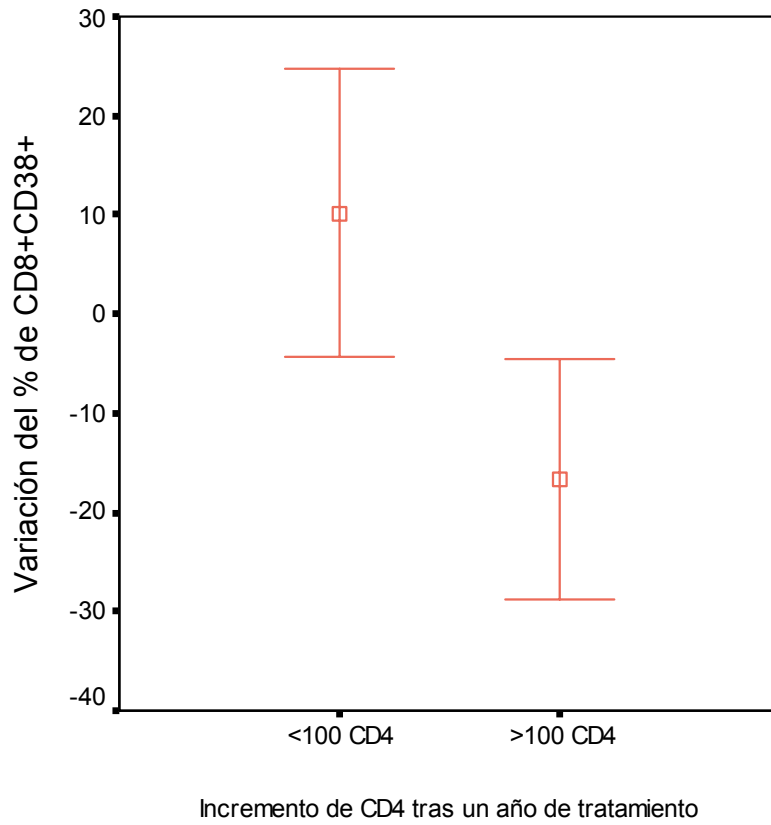


Figura 13. Evolución de la mediana de linfocitos CD8+.

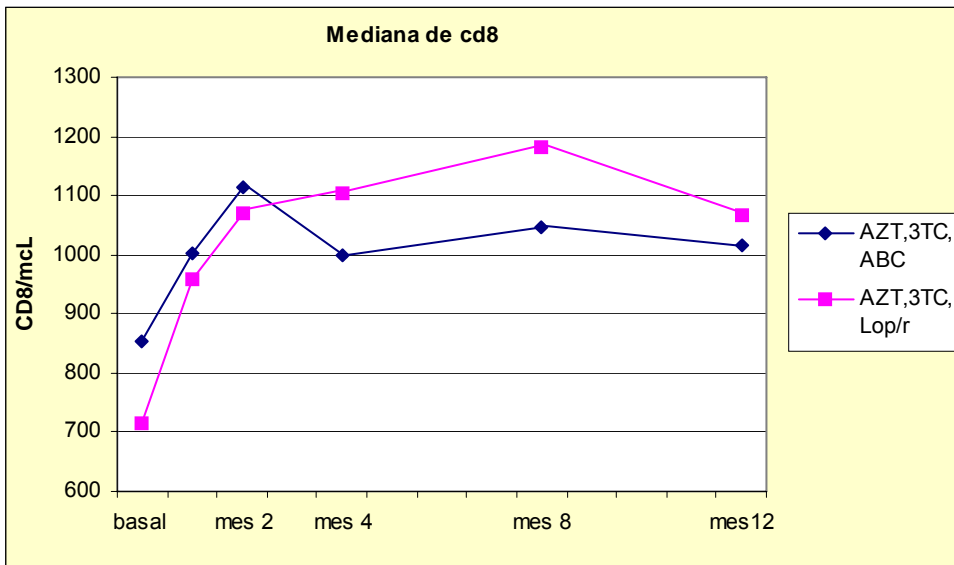


Figura 14. Evolución de la mediana de linfocitos CD8+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

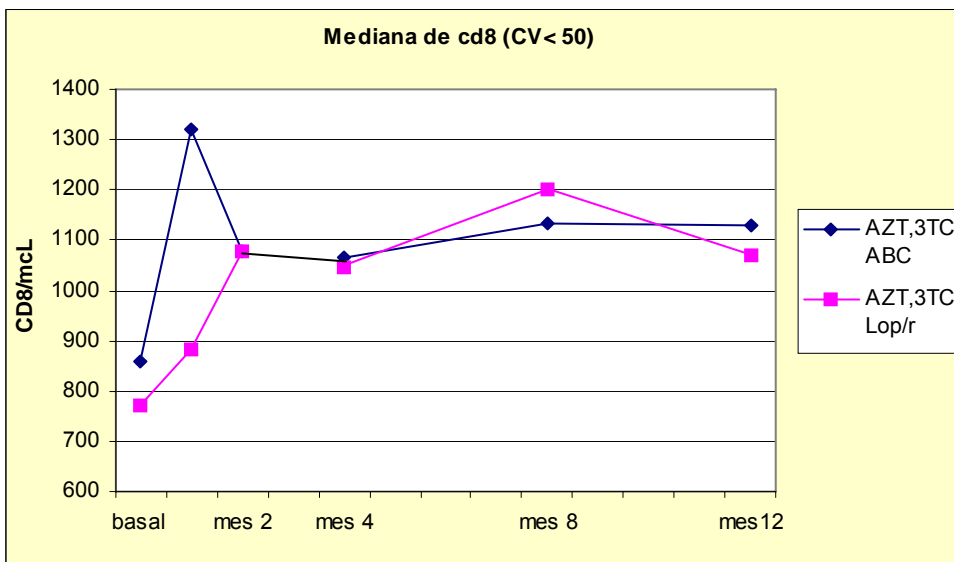


Figura 15: Evolución de la mediana del porcentaje de linfocitos CD8+.

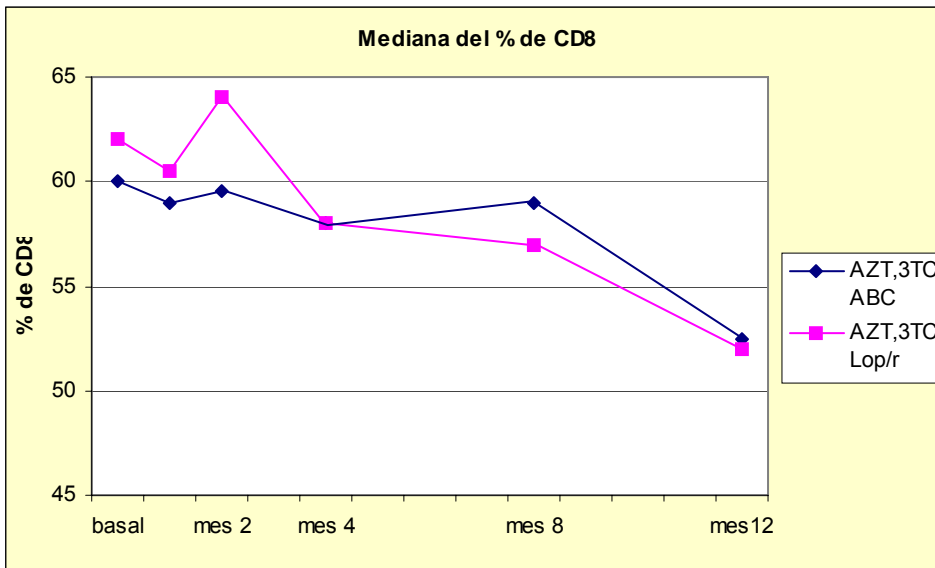
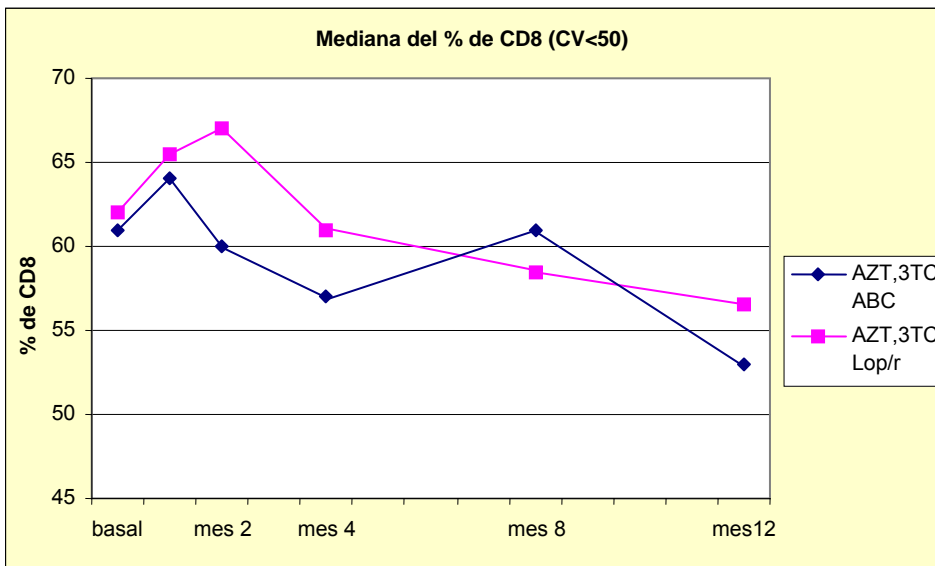


Figura 16: Evolución del porcentaje de linfocitos CD8+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los linfocitos CD4+ CD38+.

Considerados globalmente el porcentaje de linfocitos CD4+ que expresaban el marcador de activación CD38 + tendieron a descender al año de tratamiento, pasando de una mediana del 62.5% (IIC: 38-80) al 47% (IIC: 33-60) con $p=0,16$. Estudiada por separado, la activación en el grupo con AZT, 3TC, ABC no cambia de forma significativa, pasando de una mediana del 41% (IIC:27-68) al 37% (IIC: 28-53), $p=0,71$. Mientras en el grupo con AZT, 3TC, lopinavir/ritonavir la activación, que partía de cifras significativamente más altas, desciende de forma significativa pasando de una mediana del 71% (IIC: 64-85) al 57% (IIC:40-64) $p=0,028$. Este descenso tiende a ser mayor que el experimentado por los pacientes con 3 análogos ($p=0,13$). Estudiando únicamente los pacientes con carga viral indetectable se mantienen estas tendencias sin objetivarse cambios significativos en el porcentaje de CD4+ CD38+ en el grupo de análogos (pasa del 32 al 37%, $p=0,63$) y existiendo un descenso significativo de la activación en el grupo con inhibidores de la proteasa (pasando del 76 al 56%, $p=0,018$).

La evolución del porcentaje de CD4+ CD38+ del grupo de 3 análogos muestra un descenso inicial de este marcador pero un ascenso en el periodo que va del mes 8 al mes 12 de tratamiento, incluso analizando por separado aquellos enfermos que terminaron el estudio con carga viral indetectable. Por el contrario, en el grupo con IP, el descenso se mantiene al final del periodo de estudio (Figuras 17 y 18).

Figura 17. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD38+.

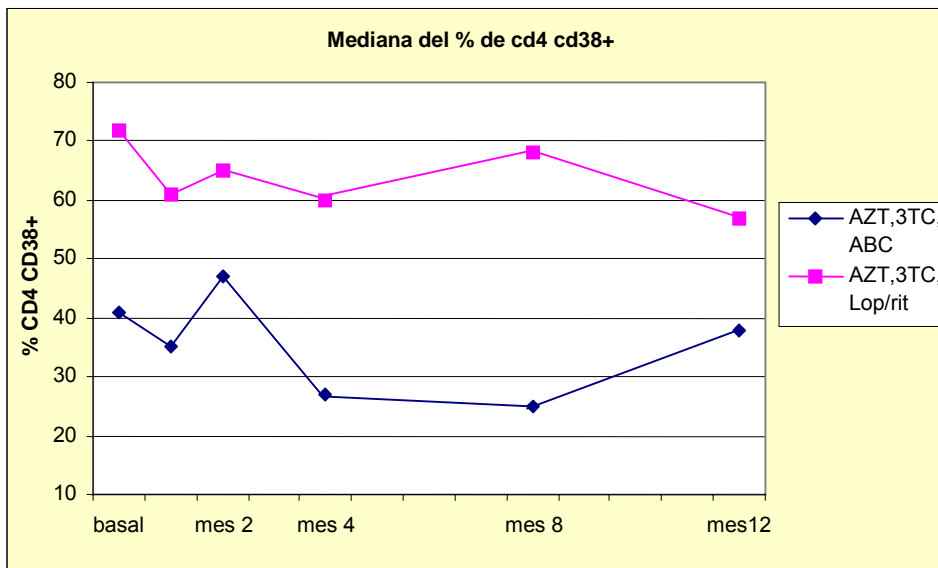
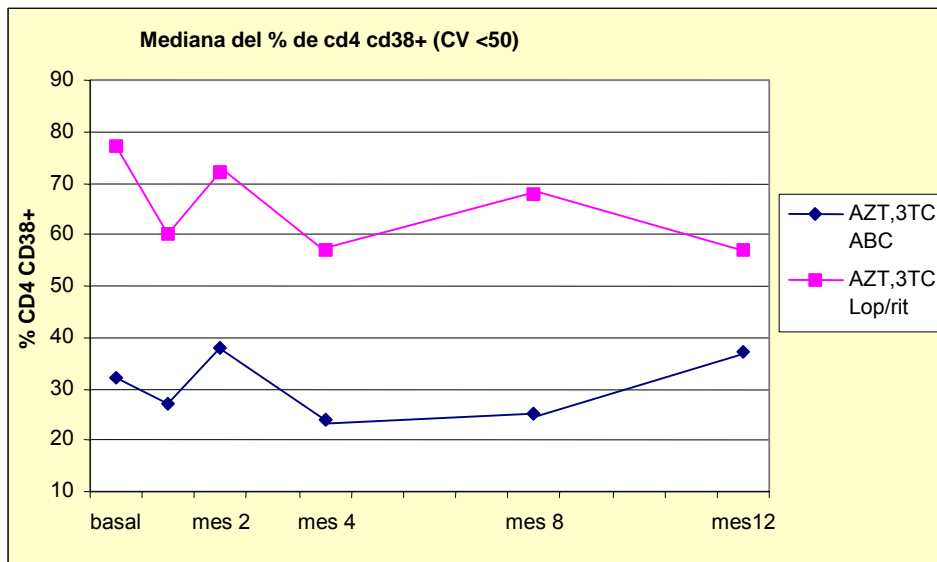


Figura 18. Evolución de la mediana del % de CD4+ CD38+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento



Evolución de los linfocitos CD4+ HLA-DR+.

El porcentaje de linfocitos CD4+ HLA-DR+ globalmente sufre un descenso significativo pasando de una mediana del 38% (IIC: 26-55) al 33% (IIC:23-45), $p=0,004$. La evolución de la mayoría de los pacientes es a un ascenso de la activación de los linfocitos en las primeras 4-8 semanas del tratamiento y un descenso progresivo hasta límites inferiores al inicio del tratamiento (Figuras 19 y 20).

En los pacientes con 3 análogos el descenso fue del 40% (IIC: 25-52) al 31% (IIC: 23-39), $p=0,030$. En el subgrupo de pacientes que alcanzaron carga viral indetectable a los 12 meses el descenso es del 46% (IIC:39-58) al 30% (IIC: 23-40), $p:0,001$. En los pacientes con IP el descenso de los CD4+ HLA-DR+ es del 37% (IIC:25-81) al 33% (IIC:21-50), $p:0,066$.

En el subgrupo de pacientes que alcanza carga viral indetectable con IP también existe una tendencia a un descenso de la activación al final del periodo de estudio, pasando del 36% (IIC: 22-89) al 25% (16-34), $p:0,16$ (Figuras 19 y 20).

Figura 19: Evolución de la mediana del % de CD4+ HLA-DR +.

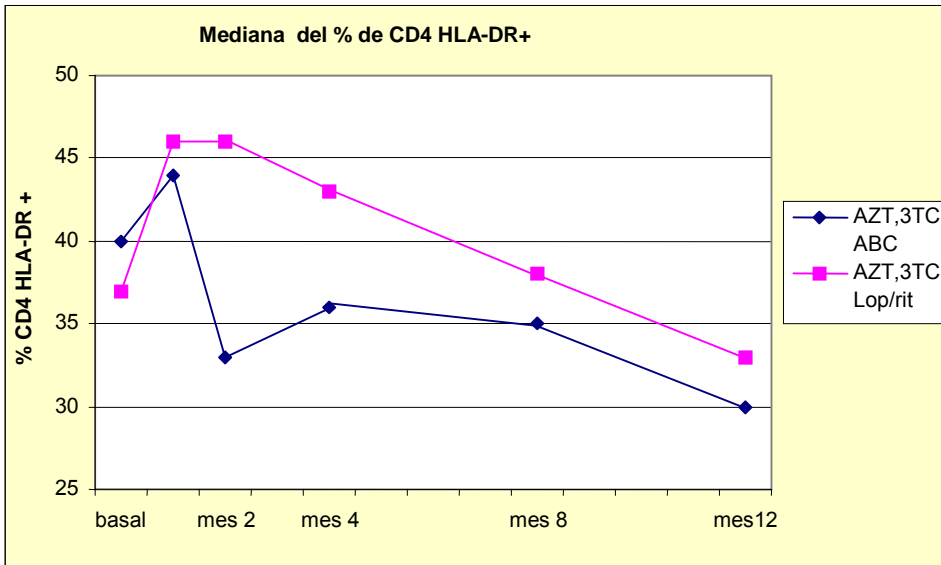
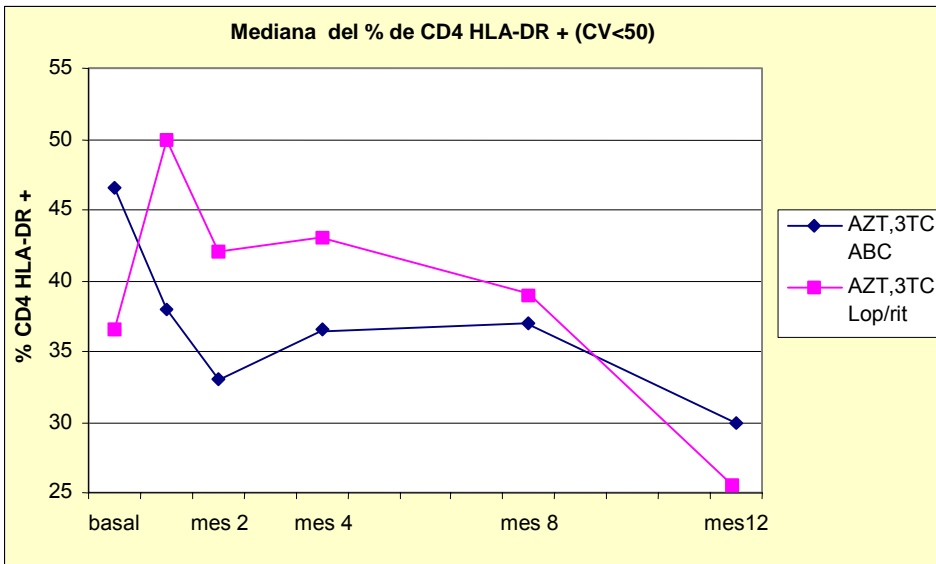


Figura 20: Evolución de la mediana del % de CD4+ HLA-DR + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los linfocitos CD4+ CD25+.

Al contrario que lo otros marcadores de activación, la población de CD4+ CD25+, que está muy disminuida en pacientes con VIH, tiende a ascender de forma progresiva con el TARGA pasando del 11% (IIC:2-17) al 15% (IIC: 6-20), aunque en este caso no de forma significativa ($p= 0,38$). En los pacientes con 3 análogos el aumento de la activación medida con este marcador es muy discreta y no significativa (del 11,5% al 14,5%, $p= 0,75$) e incluso tiende a descender mínimamente en pacientes con carga viral indetectable (15% al 13,5%, $p:0,72$). En los pacientes con IP el incremento es mayor (6% al 16,5%) pero tampoco llega a ser estadísticamente significativo ($p=0,62$) ni diferente al experimentado por el grupo de 3 análogos. En los pacientes que alcanzan carga viral indetectable con IP ocurre lo mismo pasando del 4,5% al 16,5% sin existir significación estadística ($p=0,50$) (Figuras 21 y 22).

Figura 21: Evolución de la mediana del % de CD4+ CD25+.

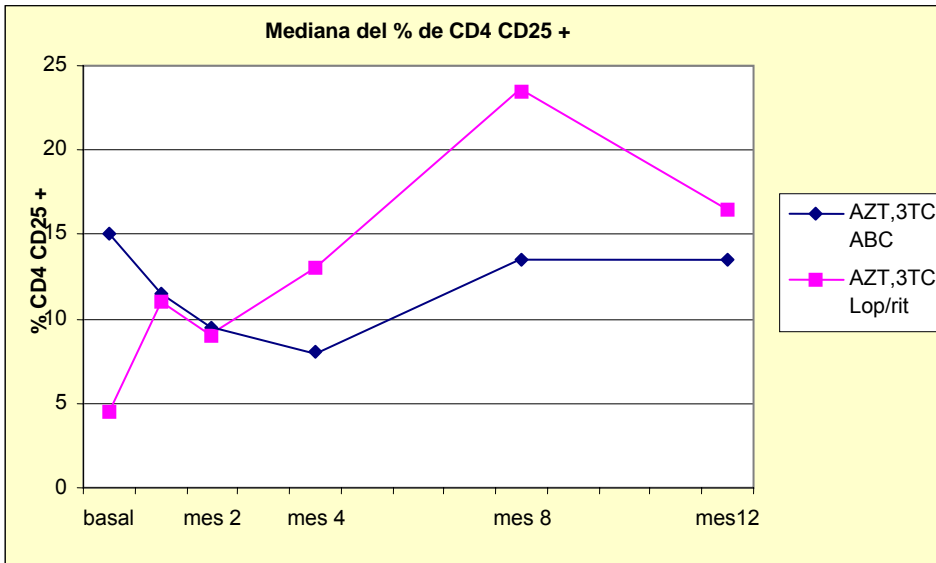
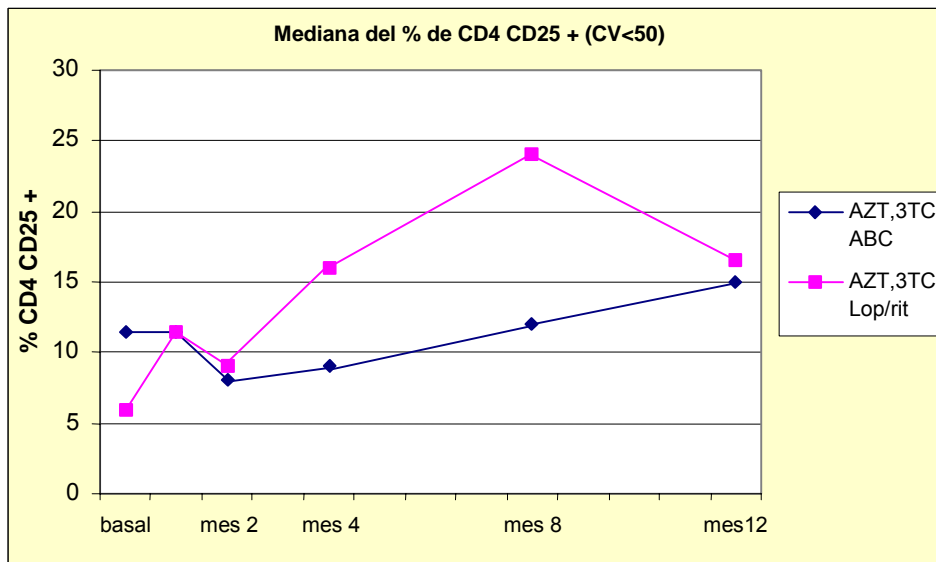


Figura 22: Evolución de la mediana del % de CD4+ CD25 + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los linfocitos CD8+ CD38+.

Al igual que pasaba con la población de CD4+ CD38+, el porcentaje de CD8+ CD38+ tiende a disminuir en nuestra cohorte tras un año de tratamiento pasando de una mediana del 79% (IIC: 55-92) al 59% (IIC:44-71); $p=0,15$. De nuevo, si consideramos los grupos de pacientes según su tratamiento, se observa que la disminución con AZT, 3TC y ABC es menor que la observada con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir. Mientras en el primer grupo la activación disminuye del 64% (IIC: 43-91) al 55% (IIC: 42-64); $p=0,59$; en el segundo grupo con IP la activación disminuyó del 89% (IIC: 78-94) al 68% (IIC:58-85): $p=0,046$. Estas diferencias entre grupos tienden a ser significativas ($p=0,19$). Hay que tener en cuenta que la activación era significativamente mayor en este segundo grupo (Tabla 4). En el grupo con carga viral indetectable en tratamiento con 3 análogos la activación se mantuvo en el 55%, mientras que en el grupo con IP y carga viral indetectable al final del estudio la activación tendió a disminuir pasando del 88 al 72% ($P=0,16$). La evolución de este marcador a lo largo del tiempo muestra una progresiva disminución con IP. Sin embargo, bajo tratamiento con 3 análogos la activación disminuye en los 4 primeros meses pero después tiende a ascender poniéndose a niveles similares al inicio del tratamiento incluso en pacientes con carga viral indetectable (Figuras 23 y 24). Este fenómeno es paralelo a la evolución que sufrían los marcadores CD4+ CD38+ con ambos tratamientos.

Figura 23: Evolución de la mediana del % de CD8+ CD38 +.

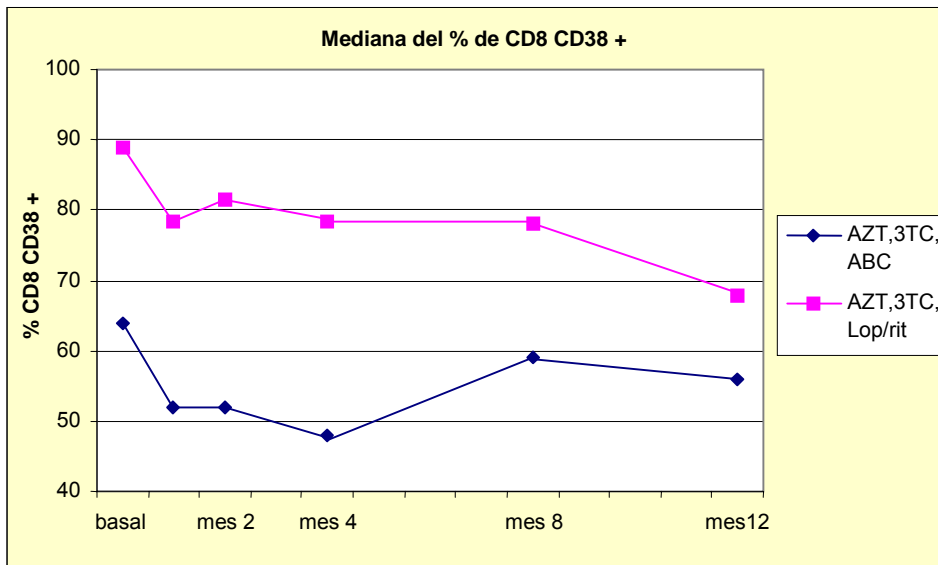
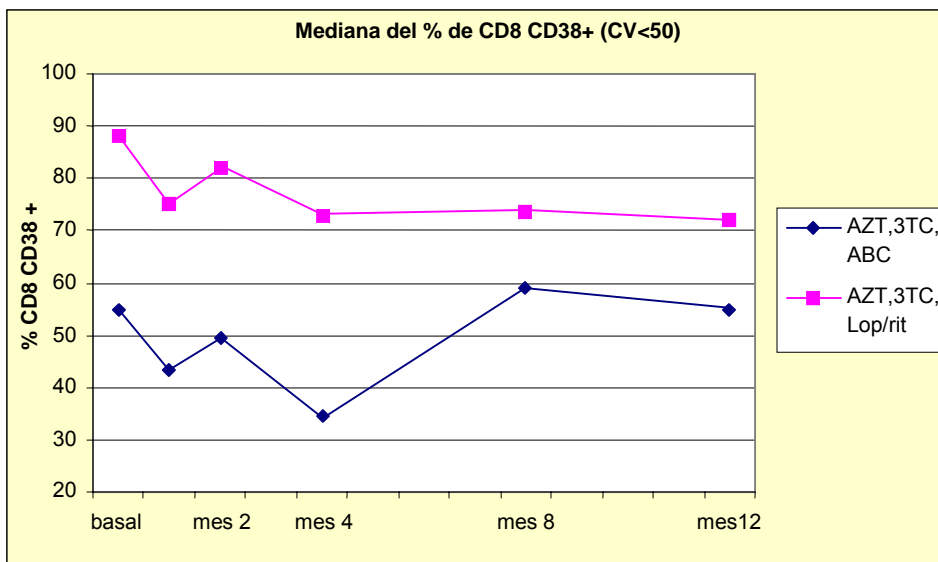


Figura 24: Evolución de la mediana del % de CD8+ CD38 + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los linfocitos CD8+ HLA-DR+.

La evolución de este marcador en los CD8+ es similar a lo observado con los CD4+ HLA-DR+. Existe una tendencia a aumentar en las primeras semanas 4-8 semanas y un paulatino descenso que fue significativamente menos pronunciado en el grupo de 3 análogos ($p=0,002$). Efectivamente, el descenso del grupo con AZT, 3TC y ABC fue del 42% (IIC: 31-51) al 38% (IIC:29-47), $p=0,54$. Mientras los pacientes con IP pasaron de un porcentaje de CD8 HLA-DR+ del 45% (IIC:39-55) al inicio del tratamiento al 32% (IIC:24-46) al final del periodo de estudio, $p=0,019$. Igualmente el descenso de la activación estuvo en el límite de la significación en los pacientes con 3 análogos que alcanzaron carga viral indetectable (pasó de 46% al 38%, $p=0,054$) que en pacientes con IP (descenso del 43% al 36%, $p=0,017$) (Figuras 25 y 26).

Figura 25: Evolución de la mediana del % de CD8+ HLA-DR+.

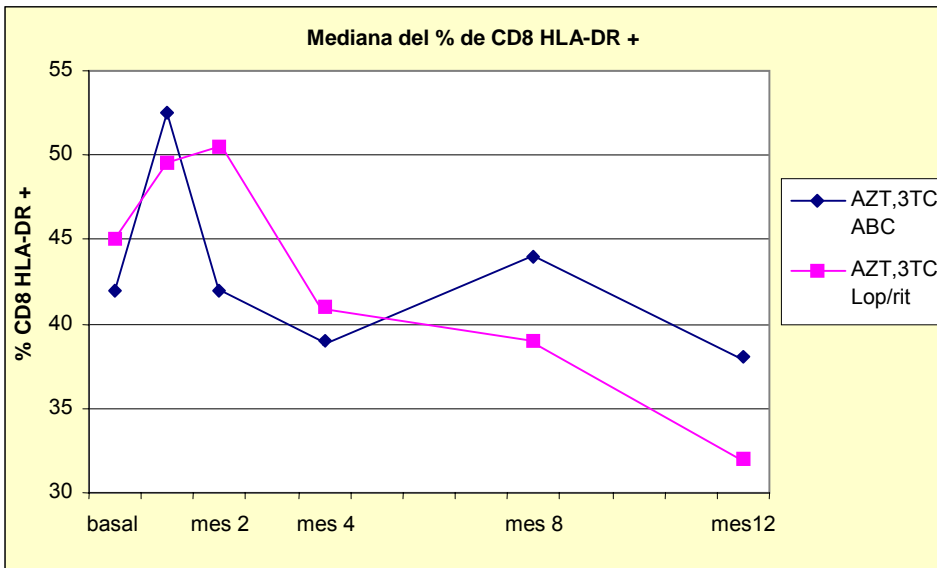
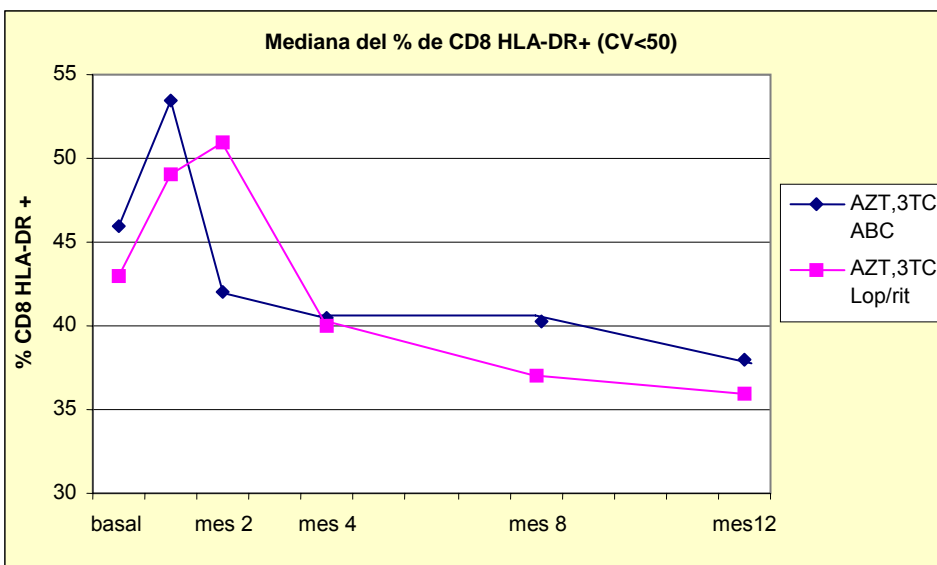


Figura 26. Evolución de la mediana del % de CD8+ HLA-DR + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los linfocitos CD8+ CD25+.

La mediana del porcentaje de linfocitos CD8 CD25+, que partía de cifras muy inferiores a la normalidad, se mantuvo en torno al 1% con un IIC entre el 1% y el 3%, y no se detectaron variaciones significativas en el periodo de estudio en ningún grupo (Figuras 27 y 28). Sin embargo, la tendencia es a un leve ascenso en el grupo de pacientes tratados con lopinavir/ritonavir.

Figura 27: Evolución de la mediana del % de CD8+ CD25 +.

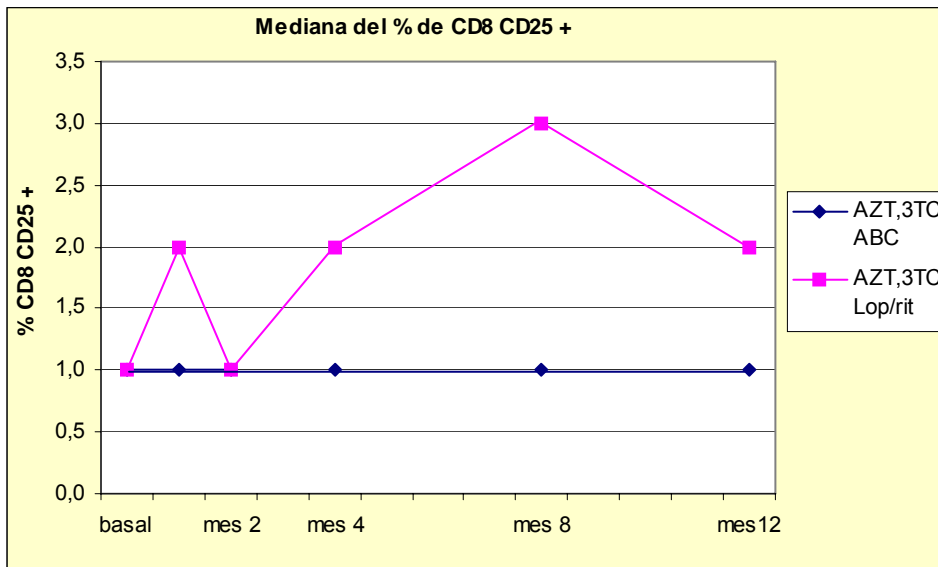
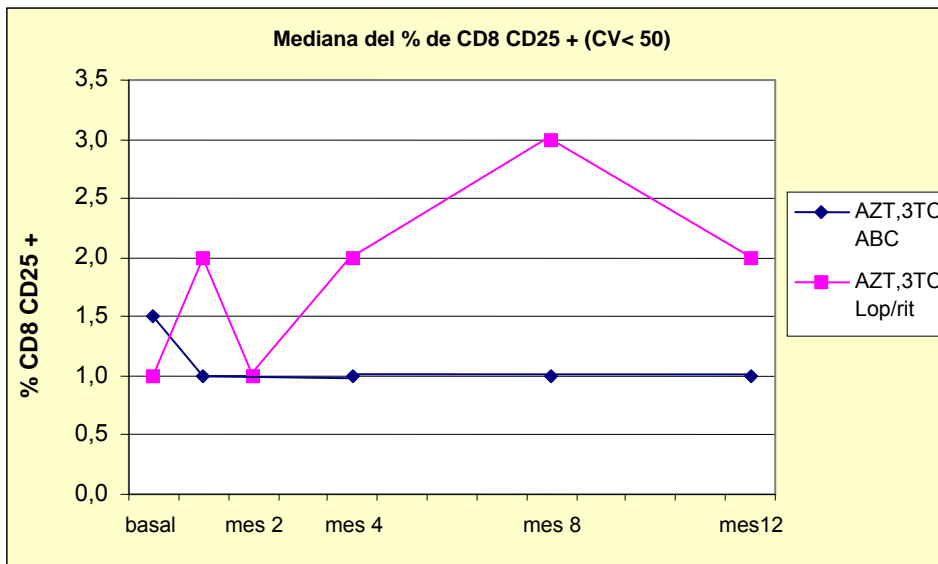


Figura 28: Evolución de la mediana del % de CD8+ CD25 + en los pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los marcadores de células *naïve* y memoria en linfocitos CD4 + y CD8+.

Los marcadores de células *naïve* (CD45RA+) y células memoria (CD45RO+) se mantuvieron estables a lo largo del tratamiento con leves fluctuaciones (Figuras de la 29 a la 32). No hubo cambios significativos dentro de los pacientes tratados con 3 análogos (Figura 29 y 30) ni en los pacientes tratados con IP (figuras 31 y 32). Aunque la cifra de CD4+ CD45RA+ al inicio del tratamiento fue mayor en los pacientes con IP (Tabla 4) su variación a lo largo del tratamiento fue similar a los pacientes con 3 análogos ($p=0.49$). Tampoco hubo diferencias en el cambio de CD4+ CD45RO+ ($P=0,36$).

De igual forma, en los linfocitos CD8+, las células *naïve* tendieron a ser mayores en los pacientes que comenzaron IP aunque no de forma significativa (Tabla 4). Su evolución, al igual que en el caso de los linfocitos CD4+, es fluctuante sin alcanzarse diferencias significativas al final del estudio ni en las células *naïve* ni en las células memoria en ninguno de los dos grupos de tratamiento (Figuras 33 a 36)

Figura 29: Evolución de los linfocitos CD4 CD45RA+ y CD4 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC.

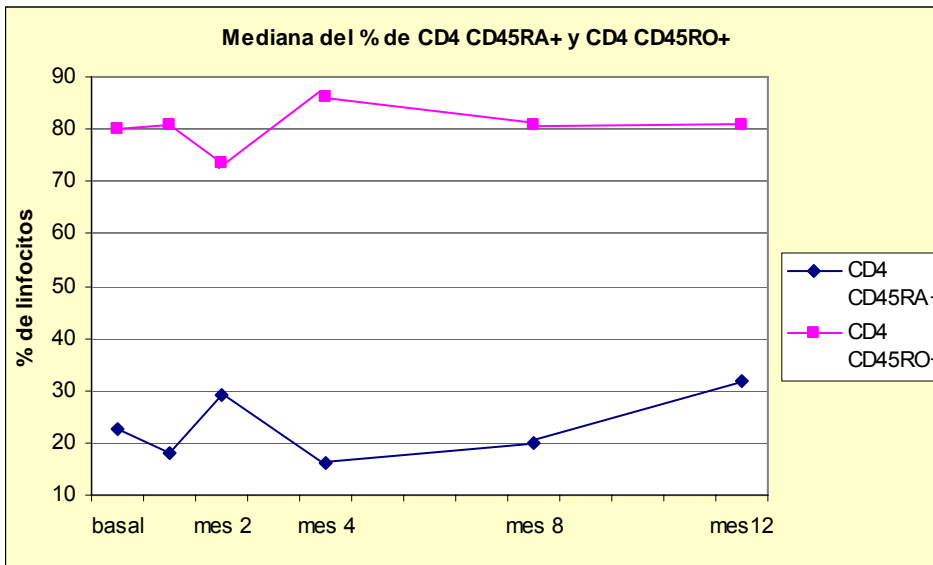


Figura 30: Evolución de los linfocitos CD4 CD45RA+ y CD4 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

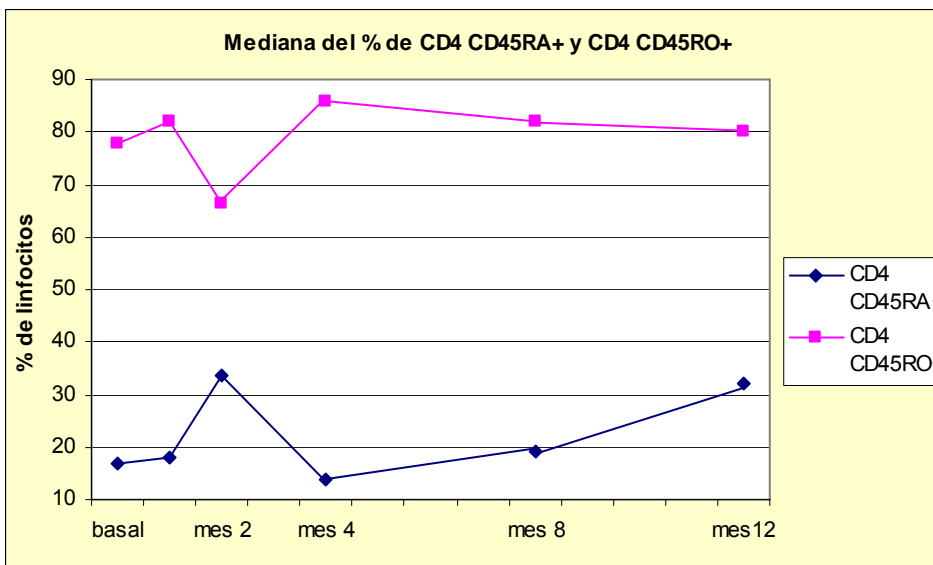


Figura 31: Evolución de los linfocitos CD4 CD45RA+ y CD4+ CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.

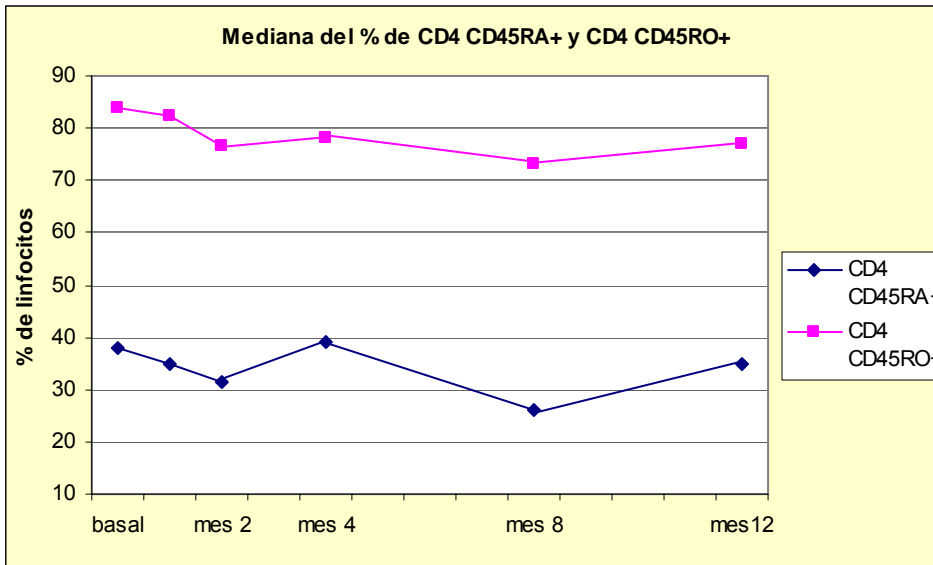


Figura 32: Evolución de los linfocitos CD4+ CD45RA+ y CD4 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

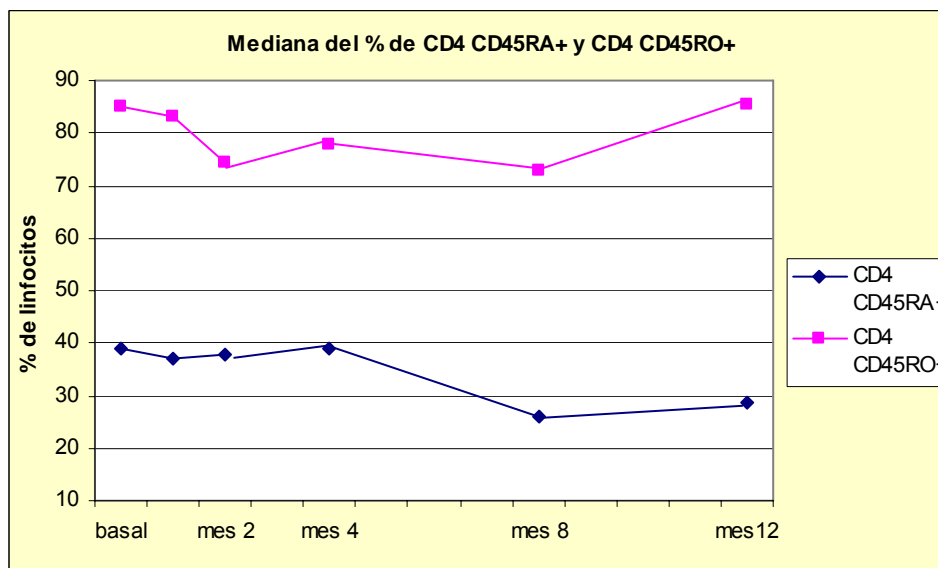


Figura 33: Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC.

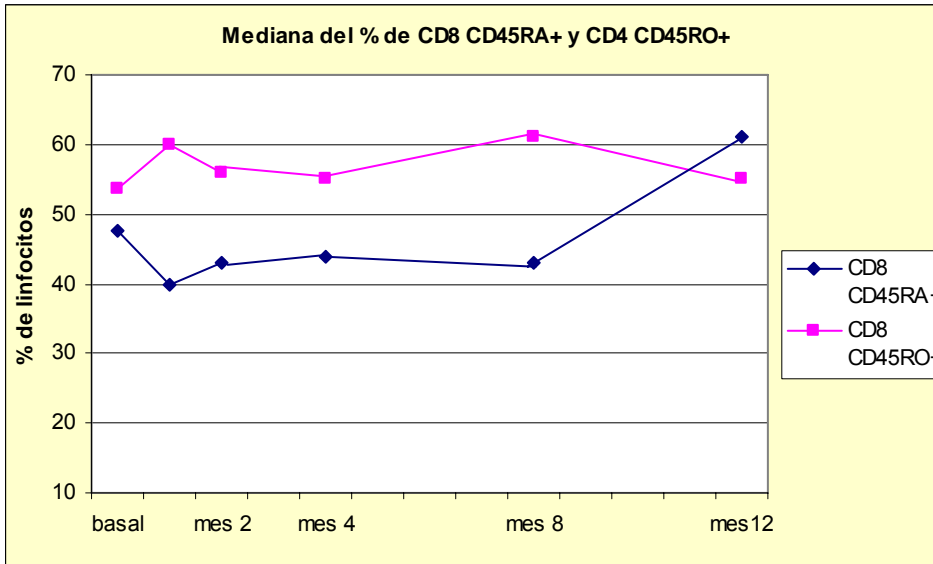


Figura 34: Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y ABC que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

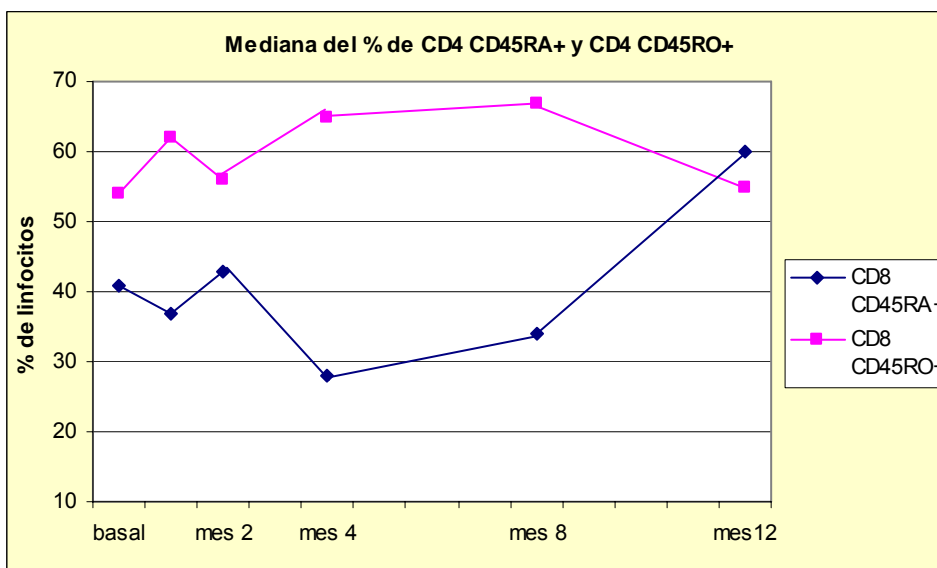


Figura 35: Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.

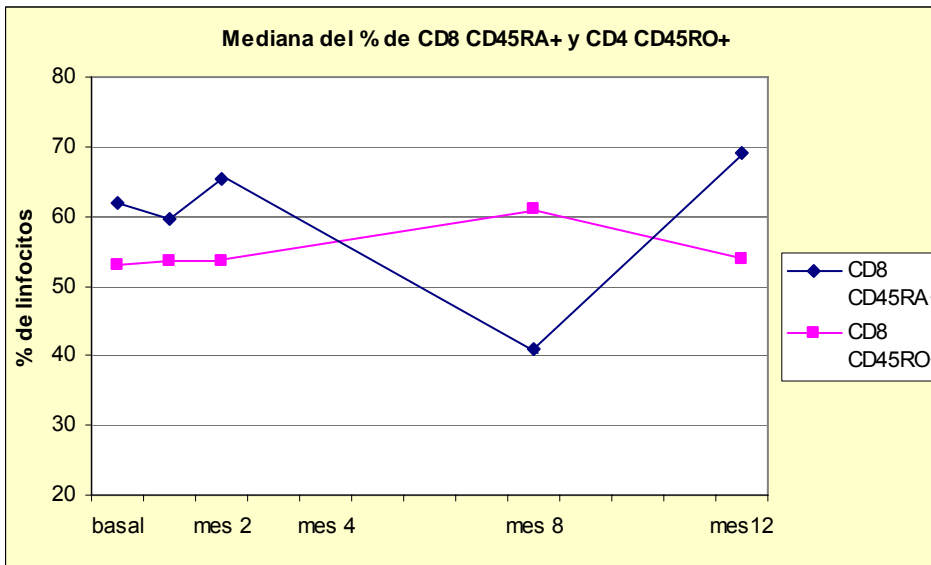
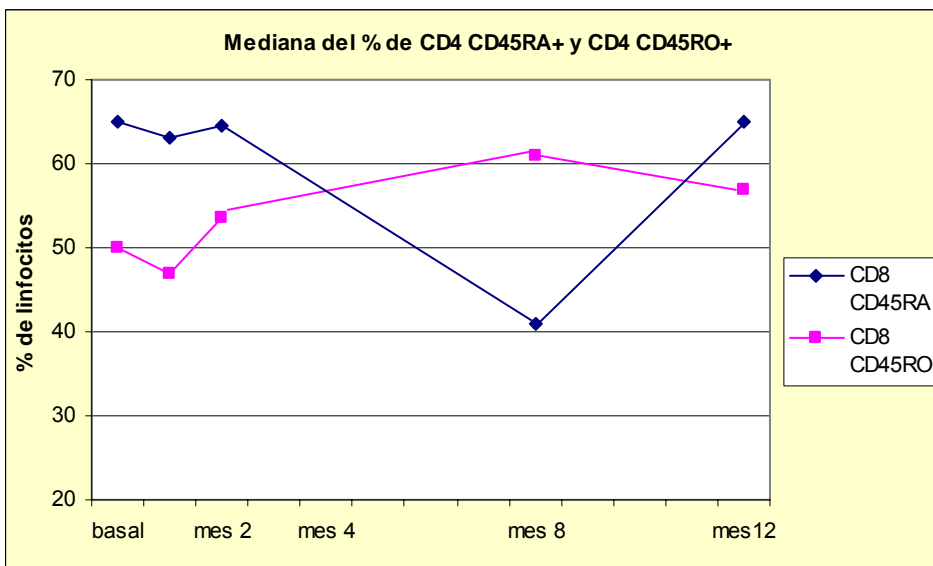


Figura 36: Evolución de los linfocitos CD8 CD45RA+ y CD8 CD45RO+ en los pacientes tratados con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.



Evolución de los marcadores de apoptosis en linfocitos CD4+ y CD8+.

La apoptosis de linfocitos CD4+ medida con el marcador CD95+ no sólo no descendió con el tratamiento si no que ascendió de forma significativa con el tratamiento pasando de una media del 70% al 81% ($p=0,03$). Analizado por separado se observó que la media del porcentaje de CD4+ CD95+ en los pacientes con tres análogos pasó del 61% al 80% ($p=0,024$) (Figura 37), mientras que en el caso de los pacientes con tratamiento con IP el porcentaje de CD4+ CD95+ pasó de un 78% a un 82% (Figura 38) sin ser un cambio significativo ($p=0,9$). En el primer grupo se observa un aumento de la activación en los últimos meses de tratamiento mientras que en el segundo permanece estable durante los 12 meses de seguimiento. Este fenómeno se observa también en el análisis de pacientes que alcanzaron carga viral indetectable (Figura 38). Sin embargo hay que tener en cuenta que basalmente la apoptosis era significativamente menor en el grupo de AZT, 3TC y ABC ($p= 0,041$) (Tabla 4).

La evolución es similar en el caso de la apoptosis en las células CD8+ medida por el marcador CD95+. Basalmente, se pasó de una media del porcentaje de CD8+ CD95+ del 66% al 75% al año de tratamiento siendo este ascenso significativo ($p= 0,014$). Por separado el grupo con tres análogos partía de una menor apoptosis que el grupo de IP (Tabla 4) y pasó del 54% al 73% tras un año de tratamiento ($p=0,008$). El grupo con IP se mantuvo en el 78% de células con expresión de marcadores de apoptosis (Figura 39). En las curvas de la evolución se observa que la apoptosis en este grupo es estable a lo largo del periodo de estudio mientras que existe una tendencia al ascenso en el grupo con tres análogos. Al igual que para los linfocitos CD4+ CD95+ este ascenso final en la población de CD8+ CD95+ se mantiene aunque se estudien por separados los pacientes que alcanzaron carga viral indetectables tras un año de tratamiento (Figura 40).

Es destacable el hecho de que el porcentaje de linfocitos CD4+ y CD8+ que expresaron el marcador de activación CD38 se relacionó de forma significativa y en todos los puntos del seguimiento con el porcentaje de linfocitos CD4+ y CD8+ que expresaban el marcador de apoptosis CD95+ (Tablas 12 y 13). Esto ocurre también en el estudio por separado de los dos grupos de tratamiento. Recordemos que la evolución de estos marcadores de activación en la población tratada con 3 análogos fue similar a los marcadores de apoptosis con un ascenso inesperado al final del periodo de estudio.

Figura 37: Evolución de la mediana del % de CD4+ CD95+.

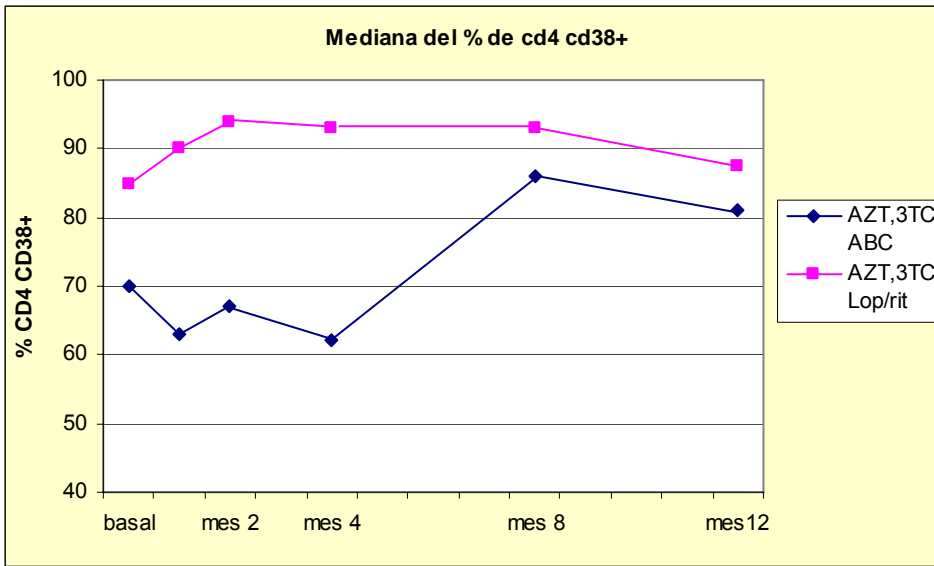


Figura 38: Evolución de la mediana del % de CD4+ CD95+ en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

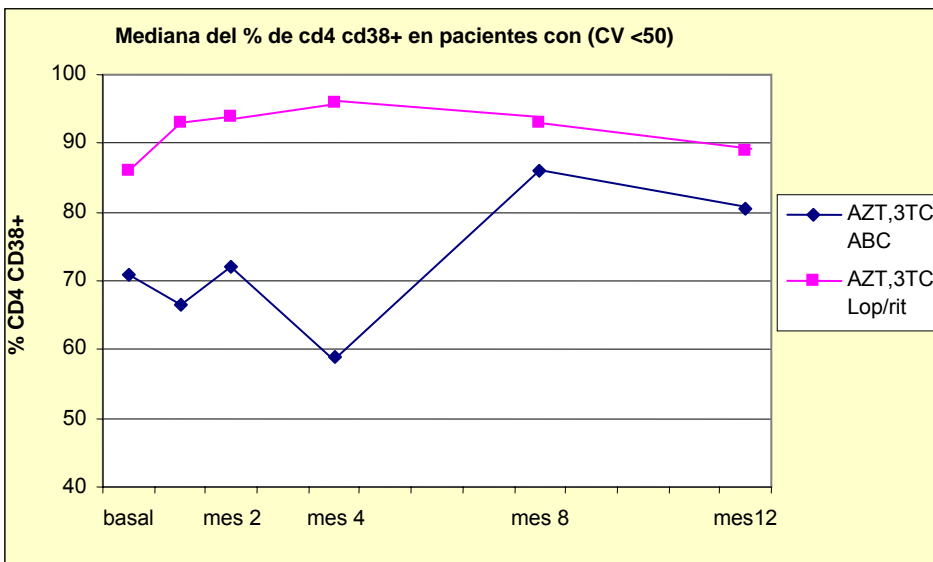


Figura 39: Evolución de la mediana del % de CD8+ CD95 +.

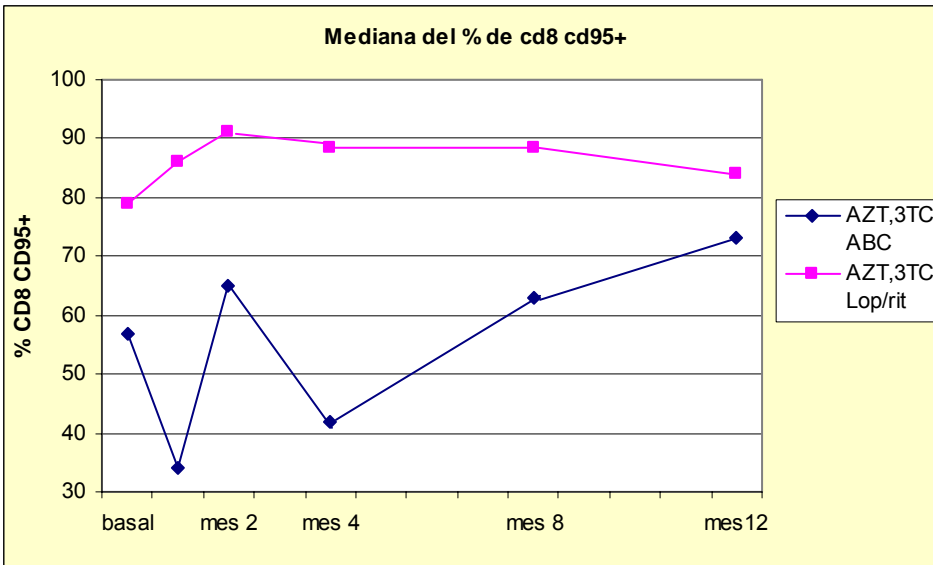


Figura 40: Evolución de la mediana del % de CD8+ CD95 + en pacientes que alcanzaron carga viral indetectable tras un año de tratamiento.

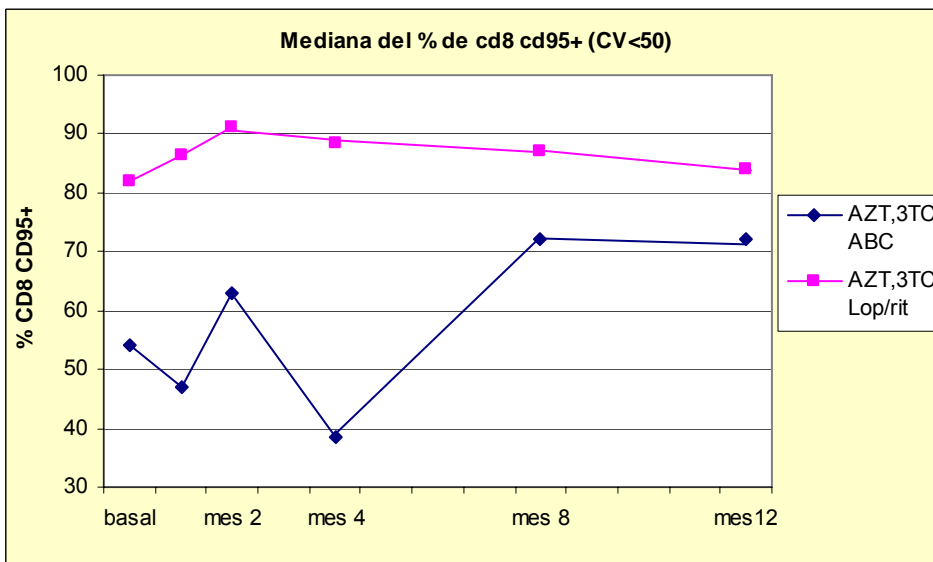


Tabla 12. Correlaciones entre el porcentaje de CD4+ activados (CD4+CD38+) y el porcentaje de CD4+ que expresan marcadores de apoptosis (CD4+CD95+) en cada momento del seguimiento.

	CD4+CD38 + basal	CD4+CD38+ mes 1	CD4+CD38+ mes 2	CD4+CD38+ mes 4	CD4+CD38+ mes 8	CD4+CD38+ mes 12
CD4+CD95+ Basal	0,601 (p<0,001)					
CD4+CD95+ mes 1		0,322 (p:0,033)				
CD4+CD95+ mes 2			0,613 (p<0,001)			
CD4+CD95+ mes 4				0,690 (p<0,001)		
CD4+CD95+ mes 8					0,564 (p<0,001)	
CD4+CD95+ mes 12						0,370 (p=0,069)

Tabla 13. Correlaciones entre el porcentaje de CD8+ activados (CD8+CD38+) y el porcentaje de CD8+ que expresan marcadores de apoptosis (CD8+CD95+) en cada momento del seguimiento.

	CD8+CD38 + basal	CD8+CD38+ mes 1	CD8+CD38+ mes 2	CD8+CD38+ mes 4	CD8+CD38+ mes 8	CD8+CD38+ mes 12
CD8+CD95+ Basal	0,673 (p<0,001)					
CD8+CD95+ mes 1		0,443 (p:0,003)				
CD8+CD95+ mes 2			0,793 (p<0,001)			
CD8+CD95+ mes 4				0,796 (p<0,001)		
CD8+CD95+ mes 8					0,425 (p<0,012)	
CD8+CD95+ mes 12						0,561 (p<0,001)

Análisis basal de la densidad de masa ósea.

Se realizó una densitometría ósea a 50 pacientes varones, 25 comenzaron tratamiento con 3 análogos y 25 con IP. Tras un año de tratamiento 17 pacientes del grupo de 3 análogos y 15 del grupo con IP acabaron la terapia con una adherencia mayor al 90% y sin cambios en el tratamiento y se les realizó una segunda densitometría. Sólo los datos de estos 32 pacientes fueron analizados.

Las características clínicas basales de estos pacientes fueron similares en ambos grupos salvo el IMC que fue ligeramente superior en el grupo que iniciaría tratamiento con IP (Tabla 14). Entre los parámetros inmunológicos basales, al igual que pasaba con la cohorte entera de enfermos, los marcadores de activación CD38+ fue significativamente mayor en los enfermos que empezaron IP que en el grupo de ITIAN (Tabla 15). La mayoría de los pacientes eran de origen caucásico (75%) y homosexuales (78%). Todos los pacientes no caucásicos salvo uno eran de origen hispano. Las características clínicas basales y la DMO fueron similares entre los pacientes de origen caucásico y los de otro origen. Considerando todos los pacientes la mediana del IMC fue de 23.1 kg/m² (IIC: 21.1-25.2) y sólo dos pacientes tuvieron un IMC menor de 20 kg/m² considerado como patológico. El 43% de los pacientes referían un hábito tabáquico habitual y el 22% un consumo moderado de alcohol de entre 10 y 60 gramos al día. El 16% y el 3% de los pacientes presentaron una serología positiva al virus de la hepatitis C y B respectivamente. La mediana de CD4+ fue de 129 células/μL (IIC: 28-189) y la mediana de carga viral fue de 5,2 logs (IIC: 4,8-5,6). El 40% de los pacientes presentaba alguna enfermedad diagnóstica de SIDA y el resto de pacientes tenían menos de 200 CD4+/μL como criterio de SIDA.

No hubo diferencias significativas en la DMO, *t-score* o en la presencia de osteopenia en el momento basal entre los dos grupos de tratamiento (Tabla 16). Considerados

globalmente, 6 de los 32 pacientes (un 19%) tenían osteopenia en la columna lumbar. La mediana del *t-score* a este nivel fue de -0,24 DS (IIC: -0,86 a 1,01). Igualmente el 19% de los pacientes sufrían de osteopenia en el cuello de fémur con una mediana del *t-score* de -0,24 DS (IIC: -0,66 a 0,11). La osteopenia estuvo presente al menos en una de estas dos localizaciones (lumbar o cuello del fémur) en 11 de los 32 pacientes (34%). La mediana de la DMO en el radio distal fue de 0,775 gr/cm² (IIC: 0,725-0,817).

En el estudio univariante, la DMO en la columna lumbar se correlacionó directamente, en el límite de la significación, con el peso ($r: 0,329$; $p=0,06$) y con el consumo moderado de alcohol ($p= 0,16$). Entre los parámetros inmunológicos, la DMO tendió a relacionarse inversamente con el cociente CD4+/CD8+ ($r:-0,247$; $p=0,17$). No se encontraron correlaciones entre la DMO en la columna lumbar y ninguna característica clínica como la edad, IMC, consumo de tabaco, hepatitis B o C, estadio CDC, nivel de CD4+ o CD8+, carga viral, o ningún parámetro bioquímico. En el estudio multivariante el peso, en el límite de la significación, el cociente CD4+/CD8+, y el consumo moderado de alcohol se mantuvieron como variables independientes asociadas a la DMO en la columna lumbar (Tabla 17). Este modelo podría explicar casi el 30% de la varianza de la DMO en esta localización (R^2 ajustado:0,283).

La DMO en el cuello del fémur se asoció significativamente de forma directa con el peso ($r:0,380$; $p= 0,032$), el cociente colesterol total/colesterol HDL ($r:0,572$; $p=0,008$), el número absoluto de linfocitos CD8+ ($r:0,403$; $p=0,022$) y, al igual que la columna lumbar, se relacionó positivamente con un consumo moderado de alcohol ($p=0,054$) en el estudio univariante. En el estudio multivariante (Tabla 17), el peso, la cifra de linfocitos CD8+ y el consumo moderado de alcohol permanecieron como factores independientes asociados a la masa ósea en el cuello del fémur. Este modelo explicaba más del 45% de la variabilidad de esta variable (R^2 ajustado: 0,455).

En el radio distal, la DMO se asoció de forma directa con la cifra de linfocitos CD8+ (r: 0,345; p=0,053), niveles de colesterol LDL (r: 0,666; p=0,001) y el consumo moderado de alcohol (p=0,032). También se encontró una correlación inversa con la carga viral (r: -0,319; p=0,075) y los niveles de triglicéridos (r: -0,446; p=0,011). En el estudio multivariante (Tabla 17), el consumo moderado de alcohol, los niveles de colesterol LDL y de triglicéridos se asociaron de forma independiente con la DMO en el radio distal (R^2 ajustado: 0,547).

La DMO en el cuello del fémur y en la columna lumbar se correlacionaron entre sí (r: 0,526; p=0,002). La DMO en el radio distal se correlacionó a su vez con la DMO en el cuello del fémur (r: 0,37; p=0,037) pero sólo débilmente con la DMO en la columna lumbar (r: 0,261; p=0,14).

Tabla 14. Características basales de los pacientes con densitometría basal y tras un año de tratamiento.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, lop/rit	p
n	17	15	
Edad media (años)	39 (36-46)	44 (37-55)	ns
Raza Caucásica [n (%)]	11 (65)	13 (87)	
Factor de riesgo [n (%)]			
ADVP	1 (6)	0	ns
Homosexual	13 (76)	12 (80)	ns
Heterosexual	3 (18)	3 (20)	ns
Estadio CDC [n (%)]			
A	7 (41)	5 (33)	ns
B	3 (18)	3 (20)	ns
C	7 (41)	7 (47)	ns
Fumador [n (%)]	7 (44)	6 (43)	ns
Consumo moderado de alcohol	3 (18)	4 (27)	ns
AgHBs + [n (%)]	1 (6)	0	ns
Ac VHC + [n (%)]	2 (12)	3 (20)	ns
CD4+	139 (38-176)	120 (12-186)	ns
Porcentaje de CD4+	6 (5-12)	7 (1-12)	ns
CD8+	860 (638-1259)	724 (370-1201)	ns
Porcentaje de CD8+	61 (53-68)	64 (42-72)	ns
Carga viral (logs)	5,2 (4,7-5,6)	5,2 (4,8-5,8)	ns
Peso (kg)	68 (60-75)	71 (67-82)	ns
Talla (cm)	175 (170-178)	172 (168-176)	ns
IMC	22 (20,7-24,2)	23,6 (22,9-25)	0,02

Tabla 15. Marcadores inmunológicos basales de los pacientes con densitometría ósea basal y tras un año de tratamiento.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, lop/rit	p
n	17	15	
Activación de CD4+			
CD4+CD38+	32 (20-75)	75 (61-92)	0,032
CD4+HLA-DR+	40 (19-50)	36 (20-92)	ns
CD4+CD25+	10 (1-17)	12 (0-19)	ns
Activación de CD8+			
CD8+CD38+	50 (42-85)	84 (74-89)	0,036
CD8+HLA-DR+	37 (24-45)	42 (27-54)	ns
CD8+CD25+	1 (0-2)	1 (0,7-2,5)	ns
Células <i>naïve</i>			
CD4+ CD45 RA+	26 (13-31)	43 (22-66)	ns
CD8+ CD45 RA+	52 (38-69)	70 (54-71)	ns
Células memoria			
CD4+ CD45 RO+	75 (73-85)	85 (69-89)	ns
CD8+ CD45 RO+	47 (29-56)	53 (41-66)	ns
Apoptosis			
CD4+CD95+	72 (50-88)	86 (65-94)	ns
CD8+CD95+	50 (29-62)	74 (95)	ns

Tabla 16: Densidad de masa ósea, *t-score* y presencia de osteopenia en el momento basal.

	AZT, 3TC, ABC	AZT, 3TC, Lop/rit	P
n	17	15	
Columna lumbar			
DMO (g/cm ²)	1,010 (0,986 a 1,154)	0,965 (0,903 a 1,211)	0,24
<i>t-score</i>	-0,160 (-0,350 a 0,995)	-0,520 (-1,090 a 1,450)	0,20
osteopenia	1 (6 %)	5 (33 %)	0,07
Cuello del fémur			
DMO (g/cm ²)	0,877 (0,776 a 0,904)	0,860 (0,816 a 0,913)	0,85
<i>t-score</i>	-0,180 (-1,015 a 0,05)	-0,310 (-0,680 a 0,130)	0,82
osteopenia	4 (23,5 %)	2 (13 %)	0,66
Osteopenia en el cuello del fémur y/o columna lumbar	5 (29 %)	6 (40 %)	0,52
Radio distal			
BMD (g/cm ²)	0,791 (0,736 a 0,824)	0,754 (0,708 a 0,818)	0,49

Tabla 17. Análisis multivariante de los factores asociados con la densidad de masa ósea en el momento basal.

	Columna lumbar			Cuello del fémur			Radio distal		
	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p
Peso (por kg)	0,0032	0,00012 a 0,007	0,058	0,005	0,002a 0,007	<0,001	---		
Log CD8+*		---		0,13	0,013 a 0,24	0,030	---		
Cociente CD4+/CD8+	-0,432	- 0,81 a - 0,05	0,028		---		---		
Colesterol LDL (por mg/dL)							0,0008	0,0023 a 0,0014	0,009
Triglicéridos (por mg/dL)		---			---		-0,0003	-0,0006 a -0,00008	0,015
Consumo moderado de alcohol	0,14	0,03 a 0,25	0,01	0,09	0,016 a 0,16	0,019	0,064	0,014 a 0,11	0,015

* La cifra absoluta de CD8+ se ha transformado a logaritmos para evitar decimales. El uso de logaritmos no varió significativamente el modelo.

Evolución de la densidad de masa ósea con TARGA.

Tras 48 semanas de tratamiento antirretroviral la mediana del incremento de los linfocitos CD4+ fue de 128 células/ μ L (IIC: 86-232) en los pacientes con tres análogos y de 167 células/ μ L (IIC: 120-276) en el grupo con IP ($p=0,24$). 13 de los 17 pacientes del primer grupo (76,5%) y 13 de los 15 del segundo grupo (87%) alcanzaron una carga viral indetectable al final del seguimiento.

La mediana de la pérdida de DMO fue del 3,4% (IIC: 1,3 a 6,1) en la columna lumbar ($p<0,001$), del 3,9% (IIC: 0,9 a 6,8) en el cuello del fémur ($p<0,001$) y del 1,8% (IIC: 0,13 a 3) en el radio distal ($p<0,001$). Considerando los dos grupos de tratamiento de forma separada, el descenso de la DMO también fue significativo en las tres localizaciones (valores de la p entre 0,04 y $<0,001$). El descenso de la masa ósea en el radio fue significativamente menor que el descenso en la columna lumbar ($p=0,022$) y que en el cuello del fémur ($p=0,002$). La proporción de pacientes que sufrieron pérdidas de masa ósea tras un año de TARGA fue del 81% en la columna lumbar, del 90% en el cuello del fémur y del 78% en el radio distal.

La mediana de la pérdida de masa ósea en la columna lumbar en el grupo de pacientes con lopinavir/ritonavir fue del 5,7% (IIC: 0,7 a 8,1) mientras que en el grupo de 3 análogos fue del 2,7% (IIC: 1,3 a 3,7) siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,044$). En el cuello del fémur la diferencia de la pérdida de masa ósea en el grupo con lopinavir/ritonavir (un 5,3%, IIC: 2,1 a 9) y el grupo de 3 análogos (3,2%, IIC: 0,5 a 4,4) se mantuvo en el límite de la significación ($p=0,058$). Por el contrario, la mediana de la pérdida de masa ósea en el radio distal no difirió significativamente entre ambos grupos de tratamiento con una pérdida del 2,4% (IIC: 0,33 a 3,6) en los pacientes con IP y del 1,7% (IIC: 0,9 a 2,8) en los pacientes con 3 análogos ($p=0,89$), (Figura 41).

La DMO basal en la columna lumbar y la carga viral basal se asociaron inversamente con el cambio de DMO en la columna lumbar ($r:-0,434$; $p=0,013$ y $r: -0,409$; $p=0,02$ respectivamente). Esto significa que aquellos con una mayor DMO basal y mayor carga viral experimentaron un mayor descenso de DMO en columna lumbar. En el estudio multivariante la DMO basal y el tratamiento con lopinavir/ritonavir permanecieron como variables independientes asociadas a la pérdida de masa ósea tras un año de tratamiento mientras que la carga viral se mantuvo en el límite de la significación. La R^2 ajustada para este modelo fue de 0,462 (Tabla 18).

En el cuello del fémur, el consumo moderado de alcohol se asoció con un mayor descenso de masa ósea en el estudio univariante ($p=0,048$). En el estudio multivariante esta variable (de forma significativa) junto con el tratamiento con lopinavir/ritonavir (en el límite de la significación) se mantuvieron como variables independientes asociadas a la pérdida de masa ósea en el cuello del fémur (R^2 ajustada:0,253), (Tabla 18).

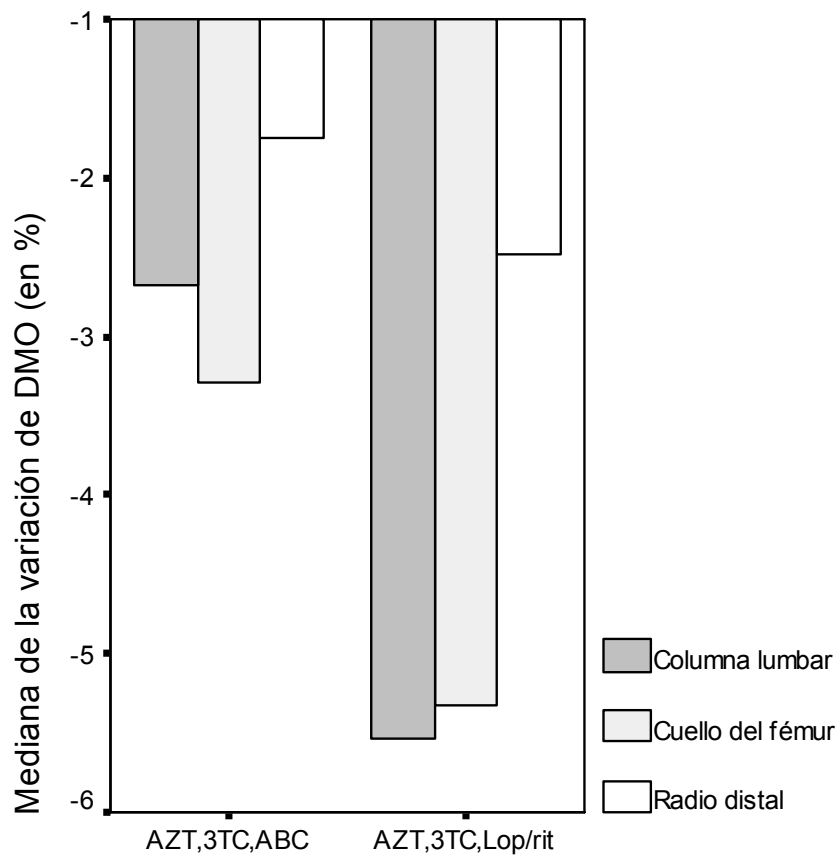
Finalmente, los cambios de DMO en el radio distal se asociaron inversamente con las cifras de colesterol total ($r: -0,494$; $p= 0,005$) y directamente con el peso ($r: 0,459$; $p= 0,009$) y el IMC ($r: 0,340$; $p= 0,06$). Las pérdidas tendieron a ser mayores en los consumidores moderados de alcohol ($p=0,054$). En el análisis multivariante (Tabla 18) el colesterol total, el peso y el consumo de alcohol se asociaron de forma independiente con el descenso de masa ósea en el radio distal tras completar el periodo de estudio (R^2 ajustada: 0,455).

No se encontraron correlaciones significativas entre el incremento de CD4+, la variación de los marcadores inmunológicos o el hecho de alcanzar una carga viral indetectable al final del estudio con el cambio de la DMO en ninguna localización.

Tabla 18: Análisis multivariante de los factores asociados con la variación de la densidad de masa ósea tras un año de tratamiento.

	Columna lumbar			Cuello del fémur			Radio distal		
	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p
Tratamiento con lopinavir/ritonavir	-0,038	-0,065 a -0,012	0,005	-0,02	-0,045 a 0,002	0,069	---		
Peso (por kg)		---			---		0,0005	0,0001 a 0,0008	0,006
Consumo moderado de alcohol		---		-0,04	-0,07 a -0,011	0,009	-0,01	-0,022 a -0,003	0,014
Colesterol total (por mg/dL)		---			---		-0,0001	-0,0002 a -0,00006	0,004
Carga viral (por log)	-0,022	-0,046 a 0,001	0,057		---			---	
DMO basal en columna lumbar (por kg/m ²)	-0,19	-0,28 a -0,09	0,001		---			---	

Figura 41. Mediana de la variación en la densidad de masa ósea (en %) tras un año de tratamiento.



Otros hallazgos: cambios en el índice de distribución de los hematíes asociados a AZT como marcador de adherencia al tratamiento.

Durante la recogida de datos se observó que en todos los pacientes se producía un incremento del índice de distribución de los hematíes (IDH) que se normalizaba tras los primeros meses de tratamiento y un incremento progresivo del volumen corpuscular medio de los hematíes (VCM). Tras esta observación se comenzaron a recoger de forma prospectiva los índices eritrocitarios de todos los pacientes. Se excluyeron los pacientes que presentaban una adherencia al tratamiento menor del 90%, anemia o alteraciones basales del IDH o del VCM. Finalmente se analizaron los cambios en el IDH y VCM en 47 pacientes tras 1, 2, 4, 8 y 12 meses en tratamiento con AZT.

La mediana de hemoglobina basal de estos pacientes fue de 13,7 g/dL (IIC:12,1 a 14,6), la mediana del VCM de 87 fL(IIC: 85,2 a 91,5; rango normal entre 80 y 100 fL) y la mediana del IDH de 13,8 % (IIC: 13,1 a 15,2; rango normal entre 11 y 15). Tras el primer y segundo mes de tratamiento el 100% y el 63% de los pacientes respectivamente mantuvieron el VCM dentro de los límites normales con valores inferiores a 100 fL. Sin embargo, en esos dos primeros meses de seguimiento el IDH se incrementó por encima de los valores normales en el 100% de los pacientes. El IDH se incrementó de forma significativa a 17,7 % (IIC:16,3 a 19,6) y a 19,8 % (IIC: 18,7 a 21,6) tras 1 mes y 2 meses de tratamiento respectivamente ($p < 0,001$ en ambos casos respecto a la basal) (Figura 42). Sólo tras 4 meses de tratamiento se observó un aumento del VCM por encima de 100 fL en todos los pacientes salvo en uno y el IDH volvió a cifras normales similares a las basales (Figura 43).

Figura 42. Variación en el índice de distribución de los hematíes durante el tratamiento con AZT.

IDH (%)

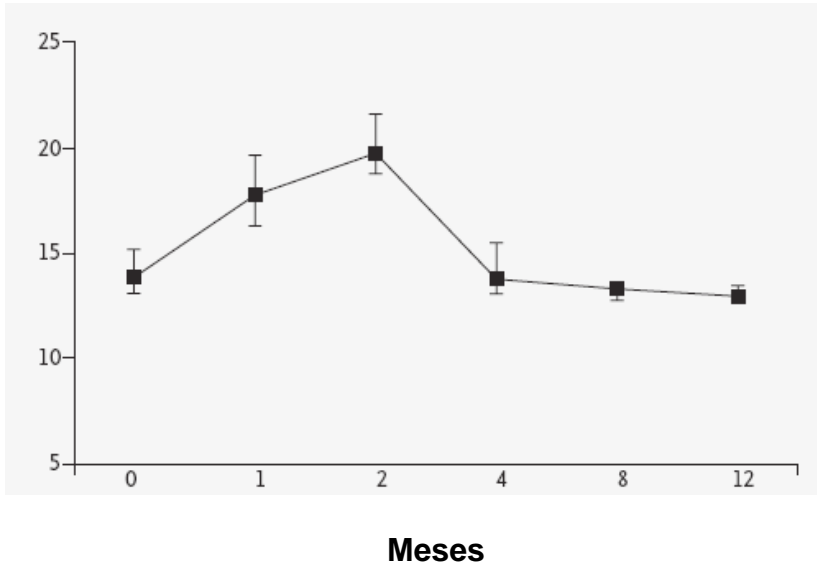
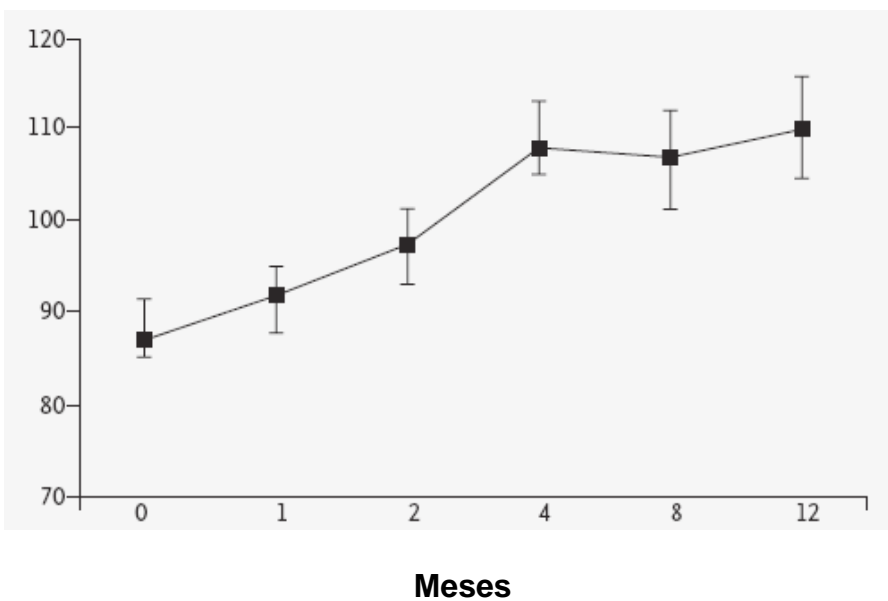


Figura 43. Variación del volumen corpuscular medio durante el tratamiento con AZT.

VCM (fL)



DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio es observar la reconstitución inmunológica, la eficacia clínica y la toxicidad de un tratamiento de 48 semanas con la combinación de AZT + 3TC + ABC frente a un tratamiento con AZT + 3TC y lopinavir/ritonavir en pacientes con SIDA. La investigación de estas dos combinaciones, en donde únicamente cambia un fármaco, nos permite estimar de forma aislada lo que aporta un IP como el lopinavir/ritonavir sobre la cinética de reconstitución de CD4+ y CD8+ y también las desventajas en términos de toxicidad o falta de adherencia. Además, se ha intentado determinar si las características basales clínicas y de las distintas subpoblaciones de linfocitos pueden predecir la respuesta inmunológica al tratamiento antirretroviral, el desarrollo de un síndrome de reconstitución inmune o, en el caso del grupo tratado con abacavir, el desarrollo de una reacción de hipersensibilidad.

Aparte de la toxicidad que clásicamente se asocia a los antirretrovirales (toxicidad gastrointestinal, hiperlipemia, hepatitis, etc.) en esta tesis se ha prestado especial atención a las variables que pueden influir en la masa ósea de los enfermos con VIH. Además de los factores de riesgo clásicos y de factores inmunológicos asociados a osteoporosis se ha evaluado específicamente el papel del tratamiento antirretroviral sobre la masa ósea pues es un aspecto que apenas se ha estudiado de forma prospectiva.

Eficacia y toxicidad del tratamiento.

El tratamiento con AZT, 3TC y ABC ofrece la posibilidad de un tratamiento con sólo dos pastillas al día, con pocas interacciones medicamentosas y, salvo en el caso de reacción de hipersensibilidad, con escasos efectos secundarios. Sin embargo, en nuestro estudio este menor número de pastillas no se tradujo en una mayor adherencia al tratamiento pues no hubo diferencias significativas en esta variable en ambos grupos de tratamiento. La adherencia fue adecuada (considerada como recogida de la medicación en > del 90%

del periodo de estudio) en alrededor del 90% de los pacientes de ambos grupos. El número de pacientes con fracaso virológico fue significativamente mayor en el grupo con 3 análogos frente al grupo con IP. Este hecho coincide con otros estudios que han comparado la eficacia de AZT, 3TC y ABC frente al uso de indinavir (26), atazanavir (27) o efavirenz (28) aunque nunca se había estudiado en pacientes severamente inmunodeprimidos como los descritos en esta serie. En nuestro caso esta menor eficacia virológica es independiente de la carga viral inicial de los pacientes. Por este motivo, el tratamiento con Trizivir^R no se considera de elección como terapia de inicio y ha sido relegado a “alternativa de la alternativa” como primera terapia de los pacientes por el VIH (24), aunque podría ser de utilidad en algunos pacientes con cargas virales bajas (71). En el estudio de la toxicidad tampoco el tratamiento con AZT, 3TC y ABC ofreció ventajas al tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir. La suspensión del tratamiento por toxicidad se produjo en aproximadamente el 20% de los pacientes en ambos grupos aunque con diferente perfil. Con lopinavir/ritonavir fueron más frecuentes las suspensiones por toxicidad gastrointestinal y hepatitis, mientras que en el grupo con abacavir la mayoría de las suspensiones del tratamiento fueron motivadas por la sospecha de una reacción de hipersensibilidad. En nuestra serie se produjo una sospecha de reacción de hipersensibilidad en el 11% de los pacientes lo que es algo mayor a otras series que muestran una frecuencia alrededor del 5% (72). No hemos encontrado ningún factor clínico ni inmunológico asociado al desarrollo de reacciones de hipersensibilidad al ABC. Recientemente se ha demostrado la asociación entre factores genéticos y el desarrollo de hipersensibilidad al ABC (70). En la práctica clínica la determinación del HLA-B*5701 puede predecir el desarrollo de esta complicación con un valor predictivo positivo del 92% y un valor predictivo negativo del 62% en población española (73). Cuando se hizo esta tesis esa determinación no estaba

disponible. Su generalización en el futuro puede aumentar la seguridad de las terapias antirretrovirales que incluyan ABC.

Es muy interesante destacar un paciente que desarrolló, además de fiebre y exantema con ABC, grandes adenopatías laterocervicales, lo que no era una reacción descrita previamente con este medicamento (Figura 7). Éste tipo de respuesta al ABC puede remedar un síndrome de reconstitución inmune y podría ser mortal en caso de no retirar el fármaco. Durante el desarrollo de esta tesis el autor identificó en su práctica clínica, junto con otros autores, otros 2 casos de reacciones de hipersensibilidad al ABC con grandes adenopatías que simulaban un SRI siendo publicado conjuntamente como una nueva entidad a tener en cuenta en el manejo de los pacientes con VIH (69).

Síndrome de reconstitución inmune.

5 pacientes desarrollaron un SRI tras comenzar el TARGA: 4 pacientes del grupo con ABC (un 9 %) y 1 con IP (un 3%) . Es destacable que 3 casos fueron pacientes con TBC ganglionar como se ha descrito en otras series (74). Hay que recordar que ningún paciente con TBC inició tratamiento con IP, por lo que es lógico que la mayoría de casos de reconstitución inmune se dieran con 3 análogos. Es destacable que aunque la eficacia viro-inmunológica del Trizivir^R puede ser menor que las combinaciones con IP eso no impide, como hemos visto, el desarrollo del SRI en una alta proporción de casos. Uno de los objetivos secundarios del estudio fue encontrar factores predictores del desarrollo del SRI, lo que tendría una indudable utilidad clínica. Aunque el número de enfermos que desarrollaron el SRI es muy pequeño se encontraron dos parámetros basales relacionados en nuestra serie con este fenómeno: una carga viral alta y un porcentaje alto de CD8+ de fenotipo memoria. Como hemos visto previamente una carga viral alta se asocia a un mayor incremento de CD4+ a los 4 meses y parece razonable pensar que

esto puede favorecer el desarrollo de SRI. Igualmente la población de CD8+ memoria con actividad citotóxica podría razonablemente relacionarse con una respuesta inmune exacerbada. Sin embargo el valor de estos datos es muy limitado por el pequeño número de casos de SRI por lo que habría que confirmar estos hallazgos en series más amplias. Los CD8+CD25+ y su descenso tras el inicio de TARGA se han relacionado también con el desarrollo de síndrome de reconstitución inmune en otras series (75). En nuestro estudio no se ha podido demostrar la relación con este marcador inmunológico. En resumen, en cuanto a la eficacia y toxicidad del tratamiento, aunque el diseño de este estudio no es el indicado para demostrar diferencias entre dos tratamientos, nuestros datos sugieren que en la práctica clínica el tratamiento con AZT, 3TC y ABC en pacientes con SIDA no ofrece ninguna ventaja desde el punto de vista de adherencia al tratamiento o toxicidad y tiene un mayor riesgo de fracaso virológico que un tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.

Las relaciones entre CD4+ y carga viral y marcadores inmunológicos basales.

En la infección por VIH, la activación de los linfocitos CD4+ y CD8+ se asocia a una mayor progresión de la enfermedad (76). Una mayor activación se asocia a un incremento de la apoptosis de los linfocitos y es responsable del descenso de CD4+ en mayor medida que el posible efecto patogénico directo del propio VIH (76). Los linfocitos CD4+ que expresan moléculas de activación como CD25 o HLA-DR son un objetivo primario del virus y una fuente de replicación viral (77). Otro marcador de activación relevante es el CD38. Los niveles de linfocitos CD8+CD38+ se correlacionan fuertemente con la viremia, descienden cuando el tratamiento antirretroviral suprime la carga viral y pueden ser un marcador de replicación viral (78).

Clásicamente se ha relacionado una cifra baja de CD4+ con una mayor activación y con una mayor proporción de linfocitos CD4+ memoria y disminución de CD4+ *naïve*. En nuestro estudio efectivamente se evidencia que el porcentaje de linfocitos CD4+ que expresaban CD38 y HLA-DR se asoció de forma inversa con el número absoluto de CD4+. Igualmente, la proporción de CD8+ CD38+ se asoció fuertemente de forma inversa con una cifra baja de CD4+. Por el contrario hay otros marcadores cuyo descenso se asocia a una peor cifra de CD4+. En nuestra serie, con pacientes muy inmunodeprimidos, evidenciamos que existe una relación directa entre el descenso de CD4+ que expresan CD25 y una cifra baja de CD4+. Este hallazgo es congruente con el hecho de que en pacientes con infección por VIH se ha relacionado el descenso de CD25 con una pobre capacidad proliferativa de los linfocitos (46). Sin embargo, aunque en el estudio univariante la cifra absoluta de CD4+ se relaciona con diversos marcadores inmunológicos y con la carga viral, en el estudio multivariante el único marcador inmunológico asociado de forma independiente a esta cifra, aparte de la cifra de CD8+, es el porcentaje de CD8+CD38+. Existen múltiples estudios que relacionan este marcador con la progresión de la enfermedad y con una cifra baja de CD4+ (33,34,37,78) por lo que la terapia antirretroviral debería conseguir minimizar la activación principalmente medida por este parámetro.

Por otra parte, no se ha encontrado correlación entre la cifra absoluta de CD4+ y los marcadores de célula *naïve* o memoria. Estas correlaciones se han descrito en pacientes con cifras de linfocitos CD4+ mayores de 200 células/ μ L pero no en pacientes con menos de esa cifra (79). De forma equivalente nuestro estudio se centra en pacientes muy inmunodeprimidos y tampoco hemos encontrado que estas subpoblaciones *naïve* o memoria se relacionen con las cifras de CD4+ en etapas tan avanzadas. Tampoco los marcadores de apoptosis se asociaron con la cifra absoluta de CD4+. La apoptosis sí que

se relacionó con el porcentaje de linfocitos, tanto CD4+ como CD8+, que expresan el marcador CD38 lo que apoya que la pérdida de CD4+, al menos en parte, puede estar mediada por un aumento de la activación y consecuentemente un aumento de la apoptosis como se ha sugerido previamente (76).

Un factor a destacar es que la correlación entre la carga viral y el número absoluto de CD4+ es débil y no se mantiene en el estudio multivariante. La carga viral sí que se asocia de forma significativa con la cifra de CD8+CD38+ lo que apoya su papel deletéreo indirecto en la población de CD4+ a través de un aumento de la activación además de un efecto patogénico directo. Probablemente la carga viral es más un indicador de la progresión de la enfermedad e indica un descenso futuro más rápido de CD4+, sin embargo estudiado de forma transversal, ya en fases avanzadas, no es un buen marcador de la situación clínica ni inmunológica.

Recuperación de CD4+.

Uno de los objetivos principales de nuestro estudio era evaluar el incremento de CD4+ tras un año de tratamiento con dos regímenes con y sin inhibidores de la proteasa.

Algunos estudios han encontrado un mayor capacidad de recuperación inmune utilizando TARGA basados en IP aunque esta conclusión es controvertida (21,22). Clásicamente se ha descrito que tras el inicio del tratamiento ARV habitualmente se observa un incremento rápido de los linfocitos CD4+ junto con una desactivación de los mismos y una liberación principalmente de linfocitos memoria atrapados del tejido linfático (3,4).

Pasados los primeros 2-6 meses la recuperación de CD4+ es más lenta, con un incremento de linfocitos de fenotipo tanto *naïve* como memoria, en un proceso que puede mantenerse durante muchos años (7,8). En nuestros pacientes severamente inmunodeprimidos este patrón bifásico, con una primera fase de incremento rápido de

CD4+ y una segunda fase más lenta, se mantiene independientemente del tratamiento que reciba el paciente (Figuras 8 y 9). Es curioso observar un incremento similar en los linfocitos CD8+ (Figuras 13 y 14). Debido a la existencia de estas dos fases tan diferenciadas hemos estudiado por separado los factores asociados al incremento de CD4+ en dos momentos del estudio: a los 4 y a los 12 meses del TARGA.

A los 4 meses de tratamiento la recuperación es mayor en aquellos pacientes que tienen una carga viral basal más alta. También se asoció de forma directa a la existencia de una alta proporción de CD8+ que expresaban la cadena alfa del receptor de la IL-2 (CD8+CD25+) y a una menor activación de CD8+ medida como CD8+HLA-DR+. Aunque una carga viral alta (12,13) y un incremento de la activación de los linfocitos T CD4+ y CD8+ se han asociado con la respuesta inmunológica al TARGA en varios estudios (15,78) no se había descrito una relación directa entre incremento de CD4+ y situación basal de CD8+CD25+. También en el estudio univariante se observó un mayor incremento de CD4+ al año en los pacientes en los que baja más la proporción de CD8+CD25+ a los 4 meses de tratamiento, aunque esta correlación se pierde en el estudio multivariante. Curiosamente, algunos autores han relacionado una cifra basal alta de CD8+CD25+ y un descenso rápido en los primeros 4 meses de TARGA con el desarrollo de síndrome de reconstitución inmune por mejoría de la capacidad de respuesta del sistema inmune (75). Se ha sugerido que ésta subpoblación CD8+CD25+, pueden tener un efecto supresor de algunas subpoblaciones de CD4+ y que su descenso se podría asociar a una mayor respuesta inmune.

La respuesta de CD4+ tras un año de tratamiento es, tras la consecución de una carga viral indetectable, el objetivo primordial del TARGA por lo que ha sido estudiada en profundidad. Indudablemente, el incremento de linfocitos CD4+ en los primeros 4 meses fue el factor más relevante asociado con el incremento de CD4+ al año de tratamiento.

Sin embargo, en la práctica es más útil el estudio de factores basales que pueden predecir una buena recuperación de CD4+. En este sentido el tratamiento con lopinavir/ritonavir y, de nuevo, el porcentaje de CD8+CD25+ se asociaron de forma independiente con un mayor incremento de CD4+. Así que se podría concluir que el tratamiento con IP puede tener influencia sobre el incremento de CD4+ independiente de la consecución de la carga viral indetectable. No obstante, este modelo explica débilmente este incremento de CD4+ lo que sugiere que existen otros factores asociados a una buena reconstitución inmune.

Evolución marcadores de activación.

Tras la instauración del TARGA se ha descrito clásicamente que se produce una rápida y significativa reducción en la activación de las distintas poblaciones linfocitarias y de marcadores de apoptosis en paralelo con el control de la replicación viral (3,4). El descenso en los marcadores de activación de la población CD8+, especialmente la subpoblación CD8+CD38+, se ha asociado de forma directa con el incremento de linfocitos CD4+ tras el inicio del TARGA (80). Igualmente, en pacientes que mantienen la carga viral indetectable con el TARGA la activación de los linfocitos CD8+ se asocia con una pobre reconstitución de linfocitos CD4+ (81). Actualmente se siguen estudiando marcadores inmunológicos asociados a una mayor progresión de la enfermedad y evaluando su evolución con el TARGA principalmente con citometría de flujo multiparamétrica que permite evaluar 3-6 marcadores de una vez (76). Incluso en trabajos más recientes, se empieza usar la tecnología de *microarrays*, que estudia la expresión génica de proteínas, permitiendo la determinación de cientos de marcadores a la vez en linfocitos CD4+ y CD8+ tanto en pacientes *naïve* (82), como tras el TARGA (83). Sin

embargo, en estos estudios se agrupan los diferentes tipos de tratamiento y no se suelen evaluar por separado los efectos del tratamiento con o sin IP.

En nuestro estudio hemos encontrado un descenso significativo en la activación medida con el marcador CD38 tanto en linfocitos CD4+ como en CD8+ pero sólo para los pacientes tratados con lopinavir/ritonavir y no para aquellos tratados con 3 análogos de nucleósidos. Desgraciadamente las dos poblaciones que iniciaron los distintos regímenes de tratamiento no son comparables basalmente desde el punto de vista de estos marcadores de activación. Efectivamente el grupo de pacientes que comenzaron con 3 análogos tiene una cifra de CD4+CD38+ y CD8+CD38+ significativamente inferior al grupo con lopinavir/ritonavir. Pensamos que esto puede ser debido simplemente al azar ya que el diseño del estudio no fue aleatorizado. Otro factor que podría influir es el hecho de que en el grupo con 3 análogos existe una alta proporción de pacientes con TBC (un 18%) mientras que en el grupo con IP no fue incluido ningún paciente por la interacción entre el tratamiento con rifampicina y el lopinavir/ritonavir. Sin embargo, incluso excluyendo a todos los pacientes con TBC del estudio siguen existiendo diferencias significativas entre los grupos. Aunque los dos grupos no sean directamente comparables en su variación de la activación sí es llamativo que en los pacientes tratados con 3 análogos se observa una tendencia al descenso de la activación tanto de CD4+CD38+ como de CD8+CD38+ en los primeros meses de tratamiento y un inesperado ascenso al final del periodo de estudio, por lo que no se observa un descenso significativo tras un año de tratamiento. Este fenómeno ocurre incluso estudiando únicamente los pacientes que alcanzaron carga viral indetectable con 3 análogos (Figuras 17, 18, 23 y 24). La subpoblación CD8+HLA-DR+ basal sí que es similar en ambos grupo de tratamiento y el descenso es mayor en los pacientes tratados con inhibidores de la proteasa.

La activación de los linfocitos CD38 en los pacientes con carga viral indetectable se ha asociado con la existencia de replicación viral residual (78). El menor descenso de la activación obtenida con la terapia con 3 análogos, incluso en pacientes con carga viral indetectable, sugiere que esta terapia, al menos en pacientes muy inmunodeprimidos, es menos capaz de mantener una supresión completa de la replicación viral que la terapia con inhibidores de la proteasa. Esto podría estar asociado a una mayor tasa de fracaso virológico y a una menor recuperación de linfocitos CD4+.

Por otra parte, el marcador CD25, que constituye la cadena α de la IL-2, requiere una mención especial. La expresión de esta molécula, de forma muy general, se ha relacionado con el control de fenómenos de autoinmunidad (45). Basalmente existe una correlación directa entre el número de CD4+ y la proporción de CD4+CD25+ lo que sugiere que su aumento podría ser beneficioso. Tras un año con TARGA los niveles de células CD4+ y CD8+ que expresan CD25 tienden a ascender principalmente en los pacientes con inhibidores de la proteasa aunque no de forma significativa. En los últimos años el estudio de las poblaciones de linfocitos CD25+ se ha centrado especialmente en el estudio las células T-reguladoras. Estas células T-reguladoras son linfocitos CD4+ que expresan CD25+ con alta intensidad (CD4+CD25^{high}), expresan otros marcadores como Foxp3, y se han asociado con la supresión del daño tisular colateral asociado a una respuesta inflamatoria prolongada (45). Recientemente también se han relacionado estas células con el control de la respuesta inmune no sólo a antígenos propios sino a patógenos externos (84). Por ejemplo, se ha visto que las células T-reguladoras influyen en el desarrollo de inmunidad frente a *Leishmania major* en ratones (85). Sin embargo, también se ha sugerido que el aumento de células T-reguladoras podría disminuir la respuesta del sistema inmune al propio VIH y su aumento podría ser deletéreo aunque a través de un descenso de la activación podrían tener un papel beneficioso (47). Por lo

tanto el papel beneficioso o perjudicial de esta población linfocitaria en el VIH es aún muy controvertido (86). Algunos estudios han relacionado las células T-reguladoras (87) y los CD8+CD25+ (75) con el desarrollo de síndrome de reconstitución inmune tras el inicio de TARGA. En nuestro estudio sólo se ha estudiado el marcador CD25, que es insuficiente para medir la proporción de células T-reguladoras, y simplemente se podría sugerir que la evolución de estas subpoblaciones que expresan CD25 podría ser distinta con distintos tratamientos antiretrovirales a pesar de la obtención de carga viral indetectable. También destacamos el posible papel de los CD8+CD25+ como factor predictor de una buena respuesta de CD4+ aunque merecería estudios más dirigidos en este sentido.

Evolución marcadores de apoptosis.

La apoptosis mediada por el receptor CD95 está relacionada con la depleción de linfocitos CD4+ y la progresión a SIDA en la población infectada por el VIH (48). También los linfocitos CD8+ pueden tener una tendencia aumentada a la apoptosis mediada por esta vía (49). La disminución de la expresión de este marcador CD95 en los linfocitos tras el tratamiento antirretroviral se ha asociado con el incremento de CD4+ (50). En nuestra serie los marcadores de apoptosis en la población de linfocitos CD4+ y CD8+ están aumentados basalmente respecto a la normalidad (49). Estos marcadores de apoptosis están directamente correlacionados con los marcadores de activación CD38 tanto en CD4+ como en CD8+ como se ha observado en otros estudios (49). Lamentablemente, al igual que ocurría con los CD8+CD38+, basalmente los marcadores de activación entre los dos grupos de tratamiento son significativamente diferentes y por tanto no son directamente comparables. Sin embargo, es destacable el hecho de que en los pacientes tratados con tres análogos la evolución de los marcadores de apoptosis es similar a los marcadores de activación CD38 con un descenso inicial y un ascenso a los 8 y doce

meses de tratamiento (Figuras 37 a 40). Este hallazgo es congruente con la evolución paralela de los marcadores de activación CD38+ pues ambas poblaciones se correlacionan fuertemente de forma directa en todos los puntos del seguimiento (Tablas 12 y 13). Por el contrario, los pacientes tratados con IP inician el tratamiento con una tasa muy alta de linfocitos CD4+ y CD8 + que expresan marcadores de apoptosis. Esta proporción no cambia significativamente a lo largo del estudio en este grupo. Este hecho sugiere que el incremento de CD4+ no se relaciona con una disminución de la apoptosis medida por CD95 en pacientes con una severa inmunosupresión.

Evolución de las poblaciones de células *naïve* y memoria.

Clásicamente se ha relacionado de forma directa la cifra de CD4+ antes del TARGA con la población de células CD4+ de fenotipo *naïve* e inversamente con las de fenotipo memoria. Estas correlaciones se han descrito en pacientes con cifras de linfocitos CD4+ mayores de 200 células/ μ L pero no en pacientes con menos de esa cifra (79). La evolución clásica de estas subpoblaciones consiste en un aumento rápido de células memoria y un aumento progresivo más a largo plazo de células *naïve*. En nuestra serie, ya basalmente, no se encontraron correlaciones entre la cifra absoluta de CD4+ y los marcadores de célula *naïve* o memoria, probablemente porque nuestro estudio se centra en pacientes muy inmunodeprimidos. Igualmente, la evolución de estas poblaciones, en ambos grupos de tratamiento, no ha seguido el modelo clásico ya que no alcanzó cambios significativos al final de los 12 meses de estudio. Es probable que el aumento de la población *naïve* tanto de CD4+ como de CD8+ necesite un periodo de seguimiento más largo para experimentar un aumento significativo en pacientes muy inmunodeprimidos. Además, en esta población tan inmunodeprimida, estos marcadores no han resultado útiles como predictores del incremento de CD4+.

Metabolismo óseo, VIH y TARGA.

En esta tesis se estudiaron los factores asociados a la presencia de un descenso de la masa ósea en pacientes *naïve* con SIDA avanzado y su evolución tras un año de tratamiento con AZT y 3TC más ABC o lopinavir/ritonavir y sus resultados se han publicado a principios de 2008 (88). Múltiples estudios han destacado la alta prevalencia de osteopenia entre los pacientes infectados por el VIH. En un meta-análisis reciente se estima que esta prevalencia es tres veces superior a la que ocurre en controles sanos (89). Las causas de esta desmineralización son múltiples aunque los mecanismos subyacentes no están totalmente aclarados ((56,90). Las tres esferas que han dominado la investigación de la etiología de la osteopenia en el VIH se han centrado en mecanismos asociados al propio virus, al tratamiento antirretroviral y a los factores tradicionalmente asociados a la pérdida de masa ósea como el bajo peso, el tabaco, la edad o la actividad física. Los estudios que han investigado el efecto del TARGA sobre la masa ósea de los pacientes infectados por el VIH han mostrado resultados controvertidos (59,60). Los estudios *in vitro* sugieren que los diferentes IP pueden tener un distinto efecto sobre el metabolismo óseo y que algunos pueden favorecer la absorción de la masa ósea mientras que otros podrían favorecer la resorción (91). Se ha descrito que el AZT, el 3TC y la didanosina tienen un efecto osteoclastogénico tanto *in vitro* como *in vivo* en ratones. Cabe destacar que la combinación de estos fármacos no resultó en un efecto aditivo o sinérgico sobre la resorción ósea (92). El tenofovir disoproxil fumarato (TDF) es un análogo de los nucleótidos que se ha asociado con un descenso de masa ósea en ratas y perros en estudios *in vivo* (56) y también en ensayos clínicos con un gran número de enfermos (93). Frecuentemente, los estudios clínicos se han encontrado con múltiples factores de confusión que han hecho difícil el análisis de los factores asociados a la

pérdida de masa ósea. Por ejemplo, en estudios transversales se ha descrito un mayor efecto deletéreo de los IP sobre la masa ósea en comparación con los ITINAN. Sin embargo este hallazgo podría asociarse a que los IP se usan con mayor frecuencia en pacientes más severamente inmunodeprimidos que los ITINAN, y por tanto con una mayor tendencia a la osteopenia (61). Muy pocos estudios longitudinales han evaluado el efecto del TARGA sobre la masa ósea. Además la mayoría de estos estudios no han realizado una densitometría antes del inicio del tratamiento sino que han estudiado pacientes que previamente ya estaban con TARGA. Estos estudios han mostrado que la DMO se mantiene estable a lo largo del tiempo o que se incrementa ligeramente (61-64). Paradójicamente, los estudios longitudinales realizados en pacientes *naïve*, han demostrado un descenso de la DMO tras el inicio del TARGA (53, 93,94). Con estos datos, algunos autores han sugerido que tras el inicio del TARGA se produce un descenso de la DMO pero que a largo plazo la masa ósea tiende a estabilizarse o a incrementarse (58,89) aunque este extremo todavía no ha sido demostrado.

En nuestro estudio se ha tratado de determinar longitudinalmente el papel del lopinavir/ritonavir sobre la masa ósea en una población en una situación clínica similar y con la misma combinación de ITIAN. Otros posibles factores de confusión como el sexo, el consumo excesivo de alcohol, la inactividad física o el uso de corticoides han sido eliminados tras unos estrictos criterios de inclusión en el diseño del estudio.

Entre los resultados destaca la alta prevalencia de osteopenia encontrada en los pacientes antes del inicio del TARGA. Esta prevalencia rondaba el 20% en la columna lumbar y en el cuello del fémur y es similar a la descrita en otros estudios (89). Como era de esperar la DMO en estas dos localizaciones se asoció de forma directa con el peso. La DMO en el radio no se relacionó con factores antropométricos tales como el peso, la talla o el IMC probablemente porque es una localización que no tiene que soportar estímulos

mecánicos a diferencia de la columna lumbar o el cuello del fémur. El excesivo consumo de alcohol es un factor de riesgo clásico de osteoporosis que también se ha relacionado con la disminución de DMO en pacientes con VIH (56). Por el contrario el consumo moderado de alcohol no es perjudicial e incluso podría ser beneficioso para conservar una adecuada masa ósea (95). En nuestra serie se asoció un consumo moderado de alcohol con una mayor DMO en las tres localizaciones estudiadas. En los últimos años el sistema inmune, en concreto los linfocitos T y las moléculas que producen, ha sido reconocido como una de las piezas clave en la homeostasis del metabolismo óseo (96). Sobre la relación entre los linfocitos CD4+ y la DMO, algunos estudios realizados en pacientes *naïve* han encontrado una correlación positiva entre la cifra de CD4+ y los marcadores de formación ósea y una correlación negativa con los marcadores de resorción ósea (97,98). Sin embargo, en otros estudios no se ha encontrado correlación entre esta cifra de CD4+ y la DMO (90). En nuestra serie es la cifra basal de linfocitos CD8+ la que parece tener una correlación más fuerte con la DMO que la cifra basal de CD4+. En el cuello del fémur la cifra de CD8+ se relaciona directamente con la DMO. En la columna lumbar es el cociente CD4+/CD8+ el que se relaciona de forma inversa con la DMO. Estos dos parámetros, la cifra de CD8+ y el cociente CD4+/CD8+, no han sido nunca evaluados en los estudios de metabolismo óseo y VIH y creemos que deberían merecer una mayor atención en el futuro. En los pacientes sin VIH las relaciones entre las subpoblaciones linfocitarias, sus citoquinas y la DMO son controvertidas. Algunos estudios en mujeres sin infección por VIH han demostrado que las mujeres osteoporóticas o con fracturas vertebrales tenían un mayor cociente CD4+/CD8+ comparado con mujeres sanas (96) lo que es congruente con nuestros resultados. Sin embargo, las redes reguladoras de las interacciones entre el metabolismo óseo y el sistema inmune son extremadamente complejas y son aún en gran medida desconocidas. En los pacientes

con VIH y un sistema inmune alterado la complejidad es aún mayor y se necesitarán múltiples estudios en el futuro para elucidarlas. En nuestra serie ningún marcador de células *naïve* o memoria, o de activación o apoptosis se relacionó con la DMO en ninguna localización.

En el radio distal la DMO se relaciona de forma directa con el colesterol LDL y de forma inversa con la cifra de TRG que se mantiene como factor relacionado de forma independiente en el estudio multivariante. Este hecho sugiere que existen también interacciones entre el metabolismo lipídico y el metabolismo óseo como se ha descrito previamente en otros estudios en pacientes con VIH (99,100).

El estudio longitudinal de la DMO nos permite evaluar los parámetros relacionados con la variación de la DMO tras 1 año de TARGA. Es interesante destacar que se produce un descenso significativo de la DMO en todas las localizaciones e independientemente del tratamiento que se haga. La magnitud de este descenso es menor en el radio distal. Las causas de este descenso son múltiples y las variables analizadas de forma independiente son pobres predictores de esta variación. La DMO basal, el peso, la carga viral o el perfil lipídico juegan un mayor o menor papel en las distintas localizaciones. Merece una atención especial el hecho de que en los pacientes tratados con lopinavir/ritonavir el descenso de la masa ósea es prácticamente el doble que el descenso en los pacientes con tres análogos en cualquiera de las localizaciones analizadas. Esta variable se mantiene como factor independiente asociado al descenso de la DMO en el estudio multivariante, al menos en el estudio en la columna lumbar. Es posible que el AZT tenga un papel deletéreo sobre la DMO en todos nuestros pacientes pero que el uso de lopinavir/ritonavir supone un efecto nocivo aditivo al uso de AZT que no se ve en los pacientes que usaron ABC en lugar del IP.

Actualmente los regímenes basados en 3 análogos de tratamiento no se contemplan como primera terapia de pacientes *naïve* salvo casos excepcionales. Sería deseable realizar en el futuro estudios aleatorizados prospectivos que comparen la evolución de la DMO con los regímenes que están actualmente en primera línea de tratamiento como AZT+3TC o TDF+FTC junto con efavirenz o lopinavir/ritonavir.

Concluimos que nuestros hallazgos indican que los pacientes con SIDA avanzado tienen una alta prevalencia de osteopenia antes del tratamiento antirretroviral y que tras un año de TARGA existe un riesgo de desmineralización, de origen multifactorial, pero que puede ser más acusado con la combinación de AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir. La significación clínica de esta descalcificación está por determinar. En el futuro veremos si este descenso de la DMO se asocia con un incremento del riesgo de fracturas cuando vaya aumentando la edad de nuestros pacientes. De cualquier modo sería deseable un diagnóstico precoz de esta complicación y la implementación de medidas preventivas como asegurar un consumo adecuado de calcio y vitamina D, evitar el consumo de alcohol o el uso de fármacos antirresortivos en caso necesario.

Índice de distribución de los hematíes y AZT.

La mala adherencia al tratamiento es un importante factor asociado al fracaso del TARGA (101). Los métodos tradicionales para monitorizar la adherencia al tratamiento incluyen el uso de cuestionarios a los pacientes, la monitorización de la recogida de la medicación de la farmacia o los niveles en sangre de los distintos fármacos. Estos métodos pueden resultar con frecuencia inexactos o caros. Los pacientes que toman AZT experimentan un aumento del volumen corpuscular medio de los hematíes (VCM) lo que puede usarse en la práctica clínica como un marcador de adherencia al tratamiento (102-104). Sin embargo, los cambios en el VCM se ven sólo tras varios meses de tratamiento con AZT

pues se deben recambiar todos los hematíes, cuya vida media es de 120 días, para observar plenamente este fenómeno. En esta tesis se ha descrito por primera vez una estrategia muy sencilla que puede ayudar a los clínicos a evaluar si en el primer y segundo mes de tratamiento el paciente se ha tomado correctamente un régimen que incluya AZT (105). Efectivamente durante el primer y segundo mes de tratamiento se mantienen los hematíes previos al tratamiento con AZT con un VCM normal y se crea una segunda población de hematíes con un VCM aumentado. La coexistencia de estas dos poblaciones eleva el IDH que es un índice de la variabilidad del tamaño de los hematíes y que viene reflejado en el hemograma. Tras los 4 primeros meses del tratamiento se han eliminado todos los hematíes con VCM normales que existían previamente al inicio de la terapia y sólo se mantienen los hematíes con VCM elevado debido al AZT pero todos de igual tamaño. Por eso en esta fase el VCM está elevado y el IDH vuelve a la normalidad. Concluimos que el IDH es un nuevo marcador de adherencia al TARGA con AZT en los primeros meses de tratamiento. Además el uso de AZT se debe incluir en los diagnósticos diferenciales ante el hallazgo de un IDH elevado en un hemograma.

Limitaciones del estudio

La principal limitación de nuestro estudio viene dada por su diseño no aleatorizado. Aunque ambas series de pacientes son comparables desde numerosos puntos de vista hemos visto que basalmente algunos marcadores importantes de activación o apoptosis eran significativamente inferiores en los pacientes del grupo de 3 análogos lo que puede limitar algunas conclusiones del estudio. Otra limitación viene dada por la definición de las distintas subpoblaciones linfocitarias por un escaso número de marcadores de membrana. Actualmente se pueden estudiar múltiples marcadores de membrana con la citometría de flujo multiparamétrica o con la tecnología de *microarrays* con lo que se

pueden definir con más precisión las distintas subpoblaciones de CD4+ y CD8+.

Igualmente esta tesis se ha centrado en la reconstitución inmune desde el punto de vista cuantitativo y no ha entrado a valorar la recuperación funcional, o de capacidad de respuesta a antígenos, con distintos tratamiento antiretrovirales. Finalmente el número de pacientes y el relativamente corto tiempo de seguimiento son otras limitaciones de nuestro estudio.

CONCLUSIONES

- 1.- El tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir parece tener una mayor potencia virológica y una mayor capacidad de recuperación de linfocitos T CD4+ que el tratamiento con AZT, 3TC y ABC en pacientes con SIDA con una similar tasa de adherencia y de abandonos por efectos secundarios.
- 2.- El número de linfocitos T CD4+ en pacientes con SIDA antes del tratamiento antirretroviral se relaciona de forma directa con la proporción de CD4+CD25+ e inversamente con la proporción de linfocitos que expresan otros marcadores de activación como los CD4+CD38+, CD4+HLA-DR+ y especialmente los CD8+CD38+. Esta correlación inversa con CD8+CD38+ es más fuerte que con la carga viral.
- 3.- En pacientes con SIDA no se han encontrado correlaciones entre la cifra de CD4+ y la población de linfocitos *naïve* y memoria ni con la apoptosis medida por el marcador CD95.
- 4.- Los marcadores de activación CD38 se correlacionan con la apoptosis medida por CD95 tanto en linfocitos CD4+ como en CD8+ en pacientes con SIDA.
- 5.- La proporción de CD8+ de fenotipo memoria antes del inicio del tratamiento antirretroviral podría asociarse con el desarrollo del síndrome de reconstitución inmune aunque harían falta un mayor número de casos para demostrar este extremo. Existe una forma de hipersensibilidad al abacavir asociada a grandes adenopatías que se puede confundirse con el síndrome de reconstitución inmune.

- 6.- El incremento de CD4+ con TARGA sigue una curva difásica con un incremento máximo en los primeros 4 meses de tratamiento. Este incremento inicial se relaciona positivamente con una carga viral alta y con el porcentaje de linfocitos CD8+CD25+ e inversamente con el porcentaje de CD8+HLA-DR+.
7. El incremento de CD4 al año del tratamiento, además de con el incremento a los 4 meses y el tratamiento con lopinavir/ritonavir, podría estar relacionado también con el porcentaje de CD8+CD25+ basal.
- 8.- El tratamiento con AZT, 3TC y ABC parece no ejercer una desactivación mantenida de la población de linfocitos CD4+ y CD8+ a diferencia del tratamiento con AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir.
- 9.- Ninguno de los tratamientos ensayados logra disminuir la apoptosis linfocitaria medida por CD95 ni ejerce cambios en la población de linfocitos de fenotipo *naïve* o memoria.
10. Los pacientes con SIDA tienen una alta prevalencia de osteopenia antes del tratamiento antirretroviral. Tras un año de TARGA existe un riesgo de desmineralización, de origen multifactorial, pero que puede ser más acusado con la combinación de AZT, 3TC y lopinavir/ritonavir que con AZT, 3TC y ABC.
- 11.- El índice de distribución de los hematíes puede ser utilizado como marcador de adherencia al tratamiento con AZT en los primeros meses de su uso. Además el uso de AZT se debe incluir en los diagnósticos diferenciales ante el hallazgo de un índice de distribución de los hematíes elevado en un hemograma.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Palella FJ, Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N.Engl.J.Med.* 1998 Mar 26;338(13):853-860.
- (2) Valdez H, Chowdhry TK, Asaad R, Woolley IJ, Davis T, Davidson R, et al. Changing spectrum of mortality due to human immunodeficiency virus: analysis of 260 deaths during 1995--1999. *Clin.Infect.Dis.* 2001 May 15;32(10):1487-1493.
- (3) Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997 Jul 4;277(5322):112-116.
- (4) Battegay M, Nuesch R, Hirschel B, Kaufmann GR. Immunological recovery and antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *Lancet Infect.Dis.* 2006 May;6(5):280-287.
- (5) Renaud M, Katlama C, Mallet A, Calvez V, Carcelain G, Tubiana R, et al. Determinants of paradoxical CD4 cell reconstitution after protease inhibitor-containing antiretroviral regimen. *AIDS* 1999 Apr 16;13(6):669-676.
- (6) Carcelain G, Debre P, Autran B. Reconstitution of CD4+ T lymphocytes in HIV-infected individuals following antiretroviral therapy. *Curr.Opin.Immunol.* 2001 Aug;13(4):483-488.
- (7) Landay A, da Silva BA, King MS, Albrecht M, Benson C, Eron J, et al. Evidence of ongoing immune reconstitution in subjects with sustained viral suppression following 6 years of lopinavir-ritonavir treatment. *Clin.Infect.Dis.* 2007 Mar 1;44(5):749-754.
- (8) Kaufmann GR, Perrin L, Pantaleo G, Opravil M, Furrer H, Telenti A, et al. CD4 T-lymphocyte recovery in individuals with advanced HIV-1 infection receiving potent antiretroviral therapy for 4 years: the Swiss HIV Cohort Study. *Arch.Intern.Med.* 2003 Oct 13;163(18):2187-2195.
- (9) Franco JM, Leon-Leal JA, Leal M, Cano-Rodriguez A, Pineda JA, Macias J, et al. CD4+ and CD8+ T lymphocyte regeneration after anti-retroviral therapy in HIV-1-infected children and adult patients. *Clin.Exp.Immunol.* 2000 Mar;119(3):493-498.
- (10) Wu H, Connick E, Kuritzkes DR, Landay A, Spritzler J, Zhang B, et al. Multiple CD4+ cell kinetic patterns and their relationships with baseline factors and virological responses in HIV type 1 patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2001 Sep 1;17(13):1231-1240.
- (11) Aiuti F, Mezzaroma I. Failure to reconstitute CD4+ T-cells despite suppression of HIV replication under HAART. *AIDS.Rev.* 2006 Apr-Jun;8(2):88-97.
- (12) Rivas P, Santos J, Mansinho K, Sarmiento R, Antunes F, Sánchez-Conde M, et al. CD4 Recovery Following Initiation of HAART is Lower in HIV-2 than in HIV-1: the Role of Low Baseline Viremia. 44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington DC, December 16-19, 2005. Abstract H-1884.

- (13) Blackard JT, Welles SL, Ackerman A, Kalia N, Cohen DE, Mayer KH. Immunological rebound after initiation of highly active antiretroviral therapy in treatment-naive patients. *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2008 Mar;24(3):499-504.
- (14) Ruiz-Mateos E, de la Rosa R, Franco JM, Martinez-Moya M, Rubio A, Soriano N, et al. Endogenous IL-7 is associated with increased thymic volume in adult HIV-infected patients under highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2003 May 2;17(7):947-954.
- (15) Goicoechea M, Smith DM, Liu L, May S, Tenorio AR, Ignacio CC, et al. Determinants of CD4+ T cell recovery during suppressive antiretroviral therapy: association of immune activation, T cell maturation markers, and cellular HIV-1 DNA. *J.Infect.Dis.* 2006 Jul 1;194(1):29-37.
- (16) Benveniste O, Flahault A, Rollet F, Elbim C, Estaquier J, Pedron B, et al. Mechanisms involved in the low-level regeneration of CD4+ cells in HIV-1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy who have prolonged undetectable plasma viral loads. *J.Infect.Dis.* 2005 May 15;191(10):1670-1679.
- (17) Mezzaroma I, Carlesimo M, Pinter E, Alario C, Sacco G, Muratori DS, et al. Long-term evaluation of T-cell subsets and T-cell function after HAART in advanced stage HIV-1 disease. *AIDS* 1999 Jul 9;13(10):1187-1193.
- (18) Connick E, Lederman MM, Kotzin BL, Spritzler J, Kuritzkes DR, St Clair M, et al. Immune reconstitution in the first year of potent antiretroviral therapy and its relationship to virologic response. *J.Infect.Dis.* 2000 Jan;181(1):358-363.
- (19) Plana M, Martinez C, Garcia F, Maleno MJ, Barcelo JJ, Garcia A, et al. Immunologic reconstitution after 1 year of highly active antiretroviral therapy, with or without protease inhibitors. *J.Acquir.Immune Defic.Syindr.* 2002 Apr 15;29(5):429-434.
- (20) Smith KY, Steffens CM, Truckenbrod A, Landay A, Al-Harthi L. Immune reconstitution after successful treatment with protease inhibitor-based and protease inhibitor-sparing antiretroviral regimens. *J.Acquir.Immune Defic.Syindr.* 2002 Apr 15;29(5):544-545.
- (21) Manzardo C, Zaccarelli M, Agüero F, Antinori A, Miro JM. Optimal timing and best antiretroviral regimen in treatment-naive HIV-infected individuals with advanced disease. *J.Acquir.Immune Defic.Syindr.* 2007 Sep;46 Suppl 1:S9-18.
- (22) Riddler SA, Haubrich R, DiRienzo G, et al. for the AIDS Clinical Trials Group 5142 Study Team. A prospective, randomized, phase III trial of NRTI-, PI- and NNRTI-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection-ACTG 5142. XVI International AIDS Conference; August 13-18. Toronto, Ontario, Canada. Abstract THLB0204.
- (23) Walmsley S, Bernstein B, King M, Arribas J, Beall G, Ruane P, et al. Lopinavir-ritonavir versus nelfinavir for the initial treatment of HIV infection. *N.Engl.J.Med.* 2002 Jun 27;346(26):2039-2046.

- (24) Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. January 29, 2008; 1-128. Disponible en: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accedido el 1 de julio de 2008.
- (25) Bartlett JA, DeMasi R, Quinn J, Moxham C, Rousseau F. Overview of the effectiveness of triple combination therapy in antiretroviral-naïve HIV-1 infected adults. *AIDS* 2001 Jul 27;15(11):1369-1377.
- (26) Staszewski S, Keiser P, Montaner J, Raffi F, Gathe J, Brotas V, et al. Abacavir-lamivudine-zidovudine vs indinavir-lamivudine-zidovudine in antiretroviral-naïve HIV-infected adults: A randomized equivalence trial. *JAMA* 2001 Mar 7;285(9):1155-1163.
- (27) Kumar PN, Salvato P, DeJesus E, LaMarca A, Patel P, Sutherland-Phillips D, et al. ACTION Study: Efficacy and Safety of Abacavir/Lamivudine/Zidovudine [ABC/3TC/ZDV] BID Versus Lamivudine/Zidovudine [3TC/ZDV] BID + Atazanavir [ATV] QD in ART-Naïve HIV-1 Infected Subjects. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Francisco, CA. September 27-30, 2006. Abstract H-1058.
- (28) Gulick RM, Ribaldo HJ, Shikuma CM, Lustgarten S, Squires KE, Meyer WA, 3rd, et al. Triple-nucleoside regimens versus efavirenz-containing regimens for the initial treatment of HIV-1 infection. *N.Engl.J.Med.* 2004 Apr 29;350(18):1850-1861.
- (29) Hewitt RG. Abacavir hypersensitivity reaction. *Clin.Infect.Dis.* 2002 Apr 15;34(8):1137-1142.
- (30) Friedland GH, Williams A. Attaining higher goals in HIV treatment: the central importance of adherence. *AIDS* 1999 Sep;13 Suppl 1:S61-72.
- (31) Chesney MA. Factors affecting adherence to antiretroviral therapy. *Clin.Infect.Dis.* 2000 Jun;30 Suppl 2:S171-6.
- (32) Seder RA, Ahmed R. Similarities and differences in CD4+ and CD8+ effector and memory T cell generation. *Nat.Immunol.* 2003 Sep;4(9):835-842.
- (33) Benito JM, Zabay JM, Gil J, Bermejo M, Escudero A, Sanchez E, et al. Quantitative alterations of the functionally distinct subsets of CD4 and CD8 T lymphocytes in asymptomatic HIV infection: changes in the expression of CD45RO, CD45RA, CD11b, CD38, HLA-DR, and CD25 antigens. *J.Acquir.Immune Defic.Syndr.Hum.Retrovirol.* 1997 Feb 1;14(2):128-135.
- (34) Bofill M, Mocroft A, Lipman M, Medina E, Borthwick NJ, Sabin CA, et al. Increased numbers of primed activated CD8+CD38+CD45RO+ T cells predict the decline of CD4+ T cells in HIV-1-infected patients. *AIDS* 1996 Jul;10(8):827-834.
- (35) Seder RA, Ahmed R. Similarities and differences in CD4+ and CD8+ effector and memory T cell generation. *Nat.Immunol.* 2003 Sep;4(9):835-842.

- (36) Ribeiro RM, Perelson AS. Determining thymic output quantitatively: using models to interpret experimental T-cell receptor excision circle (TREC) data. *Immunol.Rev.* 2007 Apr;216:21-34.
- (37) Benito JM, Gonzalez-Lahoz J. Lymphocyte subpopulations in HIV infection. *Med.Clin.(Barc)* 2004 Jan 17;122(1):24-26.
- (38) Levacher M, Tallet S, Dazza MC, Dournon E, Rouveix B, Pocidalo JJ. T activation marker evaluation in ARC patients treated with AZT. Comparison with CD4+ lymphocyte count in non-progressors and progressors towards AIDS. *Clin.Exp.Immunol.* 1990 Aug;81(2):177-182.
- (39) Mehta K, Shahid U, Malavasi F. Human CD38, a cell-surface protein with multiple functions. *FASEB J.* 1996 Oct;10(12):1408-1417.
- (40) Levacher M, Hulstaert F, Tallet S, Ullery S, Pocidalo JJ, Bach BA. The significance of activation markers on CD8 lymphocytes in human immunodeficiency syndrome: staging and prognostic value. *Clin.Exp.Immunol.* 1992 Dec;90(3):376-382.
- (41) Kestens L, Vanham G, Vereecken C, Vandenbruaene M, Vercauteren G, Colebunders RL, et al. Selective increase of activation antigens HLA-DR and CD38 on CD4+ CD45RO+ T lymphocytes during HIV-1 infection. *Clin.Exp.Immunol.* 1994 Mar;95(3):436-441.
- (42) Dalod M, Fiorentino S, Delamare C, Rouzioux C, Sicard D, Guillet JG, et al. Delayed virus-specific CD8+ cytotoxic T lymphocyte activity in an HIV-infected individual with high CD4+ cell counts: correlations with various parameters of disease progression. *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 1996 Apr 10;12(6):497-506.
- (43) Ferdman RM, Church JA. Immunologic and virologic effects of glucocorticoids on human immunodeficiency virus infection in children: a preliminary study. *Pediatr.Infect.Dis.J.* 1994 Mar;13(3):212-216.
- (44) Kovacs JA, Baseler M, Dewar RJ, Vogel S, Davey RT,Jr, Falloon J, et al. Increases in CD4 T lymphocytes with intermittent courses of interleukin-2 in patients with human immunodeficiency virus infection. A preliminary study. *N.Engl.J.Med.* 1995 Mar 2;332(9):567-575.
- (45) Holm TL, Nielsen J, Claesson MH. CD4+CD25+ regulatory T cells: I. Phenotype and physiology. *APMIS* 2004 Oct;112(10):629-641.
- (46) Plaeger S, Bass HZ, Nishanian P, Thomas J, Aziz N, Detels R, et al. The prognostic significance in HIV infection of immune activation represented by cell surface antigen and plasma activation marker changes. *Clin.Immunol.* 1999 Feb;90(2):238-246.
- (47) Nixon DF, Aandahl EM, Michaelsson J. CD4+CD25+ regulatory T cells in HIV infection. *Microbes Infect.* 2005 Jun;7(7-8):1063-1065.

- (48) Aries SP, Schaaf B, Muller C, Dennin RH, Dalhoff K. Fas (CD95) expression on CD4+ T cells from HIV-infected patients increases with disease progression. *J.Mol.Med.* 1995 Dec;73(12):591-593.
- (49) Jiang JD, Schlesinger M, Sacks H, Mildvan D, Roboz JP, Bekesi JG. Concentrations of soluble CD95 and CD8 antigens in the plasma and levels of CD8+CD95+, CD8+CD38+, and CD4+CD95+ T cells are markers for HIV-1 infection and clinical status. *J.Clin.Immunol.* 1997 Mar;17(2):185-192.
- (50) Grelli S, Campagna S, Lichtner M, Ricci G, Vella S, Vullo V, et al. Spontaneous and anti-Fas-induced apoptosis in lymphocytes from HIV-infected patients undergoing highly active anti-retroviral therapy. *AIDS* 2000 May 26;14(8):939-949.
- (51) Rho J, Takami M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the immune and skeletal systems. *Mol.Cells* 2004 Feb 29;17(1):1-9.
- (52) Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat.Rev.Immunol.* 2007 Apr;7(4):292-304.
- (53) Paton NI, Macallan DC, Griffin GE, Pazianas M. Bone mineral density in patients with human immunodeficiency virus infection. *Calcif.Tissue Int.* 1997 Jul;61(1):30-32.
- (54) Loiseau-Peres S, Delaunay C, Poupon S, Lespessailles E, Ballouche N, Arzac P, et al. Osteopenia in patients infected by the human immunodeficiency virus. A case control study. *Joint Bone Spine* 2002 Oct;69(5):482-485.
- (55) Annapoorna N, Rao GV, Reddy NS, Rambabu P, Rao KR. An Increased Risk of Osteoporosis during Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Int.J.Med.Sci.* 2004;1(3):152-164.
- (56) Glesby MJ. Bone disorders in human immunodeficiency virus infection. *Clin.Infect.Dis.* 2003;37 Suppl 2:S91-5.
- (57) Pan G, Yang Z, Ballinger SW, McDonald JM. Pathogenesis of osteopenia/osteoporosis induced by highly active anti-retroviral therapy for AIDS. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2006 Apr;1068:297-308.
- (58) Amorosa V, Tebas P. Bone disease and HIV infection. *Clin.Infect.Dis.* 2006 Jan 1;42(1):108-114.
- (59) Bruera D, Luna N, David DO, Bergoglio LM, Zamudio J. Decreased bone mineral density in HIV-infected patients is independent of antiretroviral therapy. *AIDS* 2003 Sep 5;17(13):1917-1923.
- (60) McDermott AY, Terrin N, Wanke C, Skinner S, Tchetgen E, Shevitz AH. CD4+ cell count, viral load, and highly active antiretroviral therapy use are independent predictors of body composition alterations in HIV-infected adults: a longitudinal study. *Clin.Infect.Dis.* 2005 Dec 1;41(11):1662-1670.

- (61) Nolan D, Upton R, McKinnon E, John M, James I, Adler B, et al. Stable or increasing bone mineral density in HIV-infected patients treated with nelfinavir or indinavir. *AIDS* 2001 Jul 6;15(10):1275-1280.
- (62) Dube MP, Qian D, Edmondson-Melancon H, Sattler FR, Goodwin D, Martinez C, et al. Prospective, intensive study of metabolic changes associated with 48 weeks of amprenavir-based antiretroviral therapy. *Clin.Infect.Dis.* 2002 Aug 15;35(4):475-481.
- (63) Fernandez-Rivera J, Garcia R, Lozano F, Macias J, Garcia-Garcia JA, Mira JA, et al. Relationship between low bone mineral density and highly active antiretroviral therapy including protease inhibitors in HIV-infected patients. *HIV.Clin.Trials* 2003 Sep-Oct;4(5):337-346.
- (64) Mondy K, Yarasheski K, Powderly WG, Whyte M, Claxton S, DeMarco D, et al. Longitudinal evolution of bone mineral density and bone markers in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clin.Infect.Dis.* 2003 Feb 15;36(4):482-490.
- (65) Hervey PS, Perry CM. Abacavir: a review of its clinical potential in patients with HIV infection. *Drugs* 2000 Aug;60(2):447-479.
- (66) Shelburne SA, 3rd, Hamill RJ, Rodriguez-Barradas MC, Greenberg SB, Atmar RL, Musher DW, et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome: emergence of a unique syndrome during highly active antiretroviral therapy. *Medicine (Baltimore)* 2002 May;81(3):213-227.
- (67) Valdez H, Connick E, Smith KY, Lederman MM, Bosch RJ, Kim RS, et al. Limited immune restoration after 3 years' suppression of HIV-1 replication in patients with moderately advanced disease. *AIDS* 2002 Sep 27;16(14):1859-1866.
- (68) Carbone J, Pena JM, Gil J, Benito JM, Fernandez-Cruz E. Immunophenotype of progression to AIDS: deficiency, activation and dysfunction of CD4 and CD8 T-cells. *Rev.Clin.Esp.* 2006 Apr;206(4):172-177.
- (69) Troya García J, Rivas González P, Górgolas Hernández-Mora M, Rodríguez Novoa S, Blanco Quintana S, González Lahoz J, et al. Large lymphadenopathies complicating the abacavir hypersensitivity reaction. *AIDS* 2007;21 (16):2254-2255.
- (70) Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* 2002 Mar 2;359(9308):727-732.
- (71) Berenguer J, Perez-Elias MJ, Bellon JM, Knobel H, Rivas-Gonzalez P, Gatell JM, et al. Effectiveness and safety of abacavir, lamivudine, and zidovudine in antiretroviral therapy-naive HIV-infected patients: results from a large multicenter observational cohort. *J.Acquir.Immune Defic.Syindr.* 2006 Feb 1;41(2):154-159.
- (72) Clay PG. The abacavir hypersensitivity reaction: a review. *Clin.Ther.* 2002 Oct;24(10):1502-1514.

- (73) Rodriguez-Novoa S, Garcia-Gasco P, Blanco F, Gonzalez-Pardo G, Castellares C, Moreno V, et al. Value of the HLA-B*5701 Allele to Predict Abacavir Hypersensitivity in Spaniards. *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2007 Nov;23(11):1374-1376.
- (74) Lipman M, Breen R. Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV. *Curr.Opin.Infect.Dis.* 2006 Feb;19(1):20-25.
- (75) Cianchetta-Sivori M, Raso S, Fernandez-Guerrero M, Gorgolas M, Garcia R. Do CD8(+)CD25(+) cells predict immune reconstitution syndrome in HIV-positive patients who begin HAART? *AIDS* 2007 Nov 12;21(17):2347-2349.
- (76) Langford SE, Ananworanich J, Cooper DA. Predictors of disease progression in HIV infection: a review. *AIDS.Res.Ther.* 2007 May 14;4:11.
- (77) Scriba TJ, Zhang HT, Brown HL, Oxenius A, Tamm N, Fidler S, et al. HIV-1-specific CD4+ T lymphocyte turnover and activation increase upon viral rebound. *J.Clin.Invest.* 2005 Feb;115(2):443-450.
- (78) Benito JM, Lopez M, Lozano S, Martinez P, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. CD38 expression on CD8 T lymphocytes as a marker of residual virus replication in chronically HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2004 Feb;20(2):227-233.
- (79) Mildvan D, Bosch RJ, Kim RS, Spritzler J, Haas DW, Kuritzkes D, et al. Immunophenotypic markers and antiretroviral therapy (IMART): T cell activation and maturation help predict treatment response. *J.Infect.Dis.* 2004 May 15;189(10):1811-1820.
- (80) Benito JM, Lopez M, Lozano S, Ballesteros C, Martinez P, Gonzalez-Lahoz J, et al. Differential upregulation of CD38 on different T-cell subsets may influence the ability to reconstitute CD4+ T cells under successful highly active antiretroviral therapy. *J.Acquir.Immune Defic.Syindr.* 2005 Apr 1;38(4):373-381.
- (81) Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, Brecht B, Hagos E, Lampiris H, et al. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *J.Infect.Dis.* 2003 May 15;187(10):1534-1543.
- (82) Wu JQ, Wang B, Belov L, Chrisp J, Learmont J, Dyer WB, et al. Antibody microarray analysis of cell surface antigens on CD4+ and CD8+ T cells from HIV+ individuals correlates with disease stages. *Retrovirology* 2007 Nov 26;4:83.
- (83) Wu JQ, Dyer WB, Chrisp J, Belov L, Wang B, Saksena NK. Longitudinal microarray analysis of cell surface antigens on peripheral blood mononuclear cells from HIV+ individuals on highly active antiretroviral therapy. *Retrovirology* 2008 Mar 4;5:24.
- (84) Rouse BT, Suvas S. Regulatory cells and infectious agents: detentes cordiale and contraire. *J.Immunol.* 2004 Aug 15;173(4):2211-2215.

- (85) Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, Shevach EM, Sacks DL. CD4+CD25+ regulatory T cells control *Leishmania major* persistence and immunity. *Nature* 2002 Dec 5;420(6915):502-507.
- (86) Sempere JM, Soriano V, Benito JM. T regulatory cells and HIV infection. *AIDS.Rev.* 2007 Jan-Mar;9(1):54-60.
- (87) Shankar EM, Vignesh R, Velu V, Murugavel KG, Sekar R, Balakrishnan P, et al. Does CD4+CD25+foxp3+ cell (Treg) and IL-10 profile determine susceptibility to immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS) in HIV disease? *J.Inflamm.(Lond)* 2008 Feb 18;5:2.
- (88) Rivas P, Gorgolas M, Garcia-Delgado R, Diaz-Curiel M, Goyenechea A, Fernandez-Guerrero ML. Evolution of bone mineral density in AIDS patients on treatment with zidovudine/lamivudine plus abacavir or lopinavir/ritonavir. *HIV.Med.* 2008 Feb;9(2):89-95.
- (89) Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS* 2006 Nov 14;20(17):2165-2174.
- (90) Qaqish RB, Sims KA. Bone disorders associated with the human immunodeficiency virus: pathogenesis and management. *Pharmacotherapy* 2004 Oct;24(10):1331-1346.
- (91) Jain RG, Lenhard JM. Select HIV protease inhibitors alter bone and fat metabolism ex vivo. *J.Biol.Chem.* 2002 May 31;277(22):19247-19250.
- (92) Pan G, Kilby M, McDonald JM. Modulation of osteoclastogenesis induced by nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2006 Nov;22(11):1131-1141.
- (93) Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, DeJesus E, Suleiman JM, Miller MD, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004 Jul 14;292(2):191-201.
- (94) Mallon PW, Miller J, Cooper DA, Carr A. Prospective evaluation of the effects of antiretroviral therapy on body composition in HIV-1-infected men starting therapy. *AIDS* 2003 May 2;17(7):971-979.
- (95) Williams FM, Cherkas LF, Spector TD, MacGregor AJ. The effect of moderate alcohol consumption on bone mineral density: a study of female twins. *Ann.Rheum.Dis.* 2005 Feb;64(2):309-310.
- (96) Clowes JA, Riggs BL, Khosla S. The role of the immune system in the pathophysiology of osteoporosis. *Immunol.Rev.* 2005 Dec;208:207-227.
- (97) Serrano S, Marinoso ML, Soriano JC, Rubies-Prat J, Aubia J, Coll J, et al. Bone remodelling in human immunodeficiency virus-1-infected patients. A histomorphometric study. *Bone* 1995 Feb;16(2):185-191.

- (98) Teichmann J, Stephan E, Lange U, Discher T, Friese G, Lohmeyer J, et al. Osteopenia in HIV-infected women prior to highly active antiretroviral therapy. *J.Infect.* 2003 May;46(4):221-227.
- (99) Brown TT, Ruppe MD, Kassner R, Kumar P, Kehoe T, Dobs AS, et al. Reduced bone mineral density in human immunodeficiency virus-infected patients and its association with increased central adiposity and postload hyperglycemia. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 2004 Mar;89(3):1200-1206.
- (100) Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Tarasow E, Siergiejszyk L, Prokopowicz D. The possible association between serum cholesterol concentration and decreased bone mineral density as well as intravertebral marrow fat in HIV-1 infected patients. *Infection* 2007 Feb;35(1):46-48.
- (101) Altice FL, Friedland GH. The era of adherence to HIV therapy. *Ann.Intern.Med.* 1998 Sep 15;129(6):503-505.
- (102) Snower DP, Weil SC. Changing etiology of macrocytosis. Zidovudine as a frequent causative factor. *Am.J.Clin.Pathol.* 1993 Jan;99(1):57-60.
- (103) Romanelli F, Empey K, Pomeroy C. Macrocytosis as an indicator of medication (zidovudine) adherence in patients with HIV infection. *AIDS Patient Care STDS* 2002 Sep;16(9):405-411.
- (104) Steele RH, Keogh GL, Quin J, Fernando SL, Stojkova V. Mean cell volume (MCV) changes in HIV-positive patients taking nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs): a surrogate marker for adherence. *Int.J.STD AIDS* 2002 Nov;13(11):748-754.
- (105) Rivas P, Gorgolas M, Fernandez-Guerrero ML. Zidovudine and red-cell distribution width. *N.Engl.J.Med.* 2005 May 19;352(20):2141-2142.

ANEXO:

Publicaciones con datos extraídos de esta tesis

Comunicaciones a congresos nacionales

Evolución de marcadores de activación en pacientes con SIDA a lo largo del tratamiento antirretroviral.

R. García, S. Raso, M.L. Fernández-Guerrero, **P.Rivas**, M. de Górgolas.
Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Antecedentes y objetivos. El objetivo del presente trabajo es estudiar la evolución de distintos marcadores de activación en pacientes con SIDA que reciben una triple terapia sin inhibidores de proteasa vírica y valorar si alguno de ellos puede servir como marcador precoz del fracaso terapéutico.

Materiales y métodos. 36 pacientes con criterios de SIDA que proceden de la policlínica de infecciosas. Todos ellos reciben una medicación antirretroviral compuesta por 3 análogos de nucleósidos inhibidores de RT: 3TC, AZT y Abacavir. Determinaciones de CD3, CD4, CD8 y de marcadores de activación sobre CD4 y CD8 como CD38, CD25, CD95 y HLA-DR, en un citómetro Facs Calibur. Carga viral por Roche Amplicor ultrasensible. Determinaciones basales, 1, 2, 4, 6 y 12 meses.

Resultados y conclusiones. A lo largo del tratamiento antirretroviral se produce un descenso de la carga viral de los pacientes que se acompaña de un aumento de CD4, sin que varíe la proporción de células de memoria o naïve. Los marcadores de activación, CD38 y HLA-DR decrecen de manera significativa en estos pacientes, mientras que CD25 no varía. Así mismo hay un descenso de marcador de apoptosis (CD95) en los primeros tiempos de tratamiento. En los linfocitos CD8 también se conserva la proporción de células vírgenes y de memoria, produciéndose un descenso fundamentalmente de CD38 pero no de clase II y el CD95 desciende en los primeros meses de tratamiento, para volver a elevarse después. En el tratamiento antirretroviral, la evolución de marcadores de activación puede indicar la eficacia del mismo.

Evolución de estirpes celulares del sistema inmune diferentes de linfocitos CD4 durante el tratamiento antiretroviral en pacientes con SIDA

Rosa García, Carmen Seoane, Sandra Raso, **Pablo Rivas**, Ana Goyenechea, Miguel Górgolas, Manuel Fernández-Guerrero. Departamentos de Inmunología y Enfermedades Infecciosas. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Antecedentes y Objetivos: La evolución de la carga viral VIH-1 y de los linfocitos CD4 son los indicadores más ampliamente aceptados en la evolución de pacientes con SIDA a lo largo del tratamiento antiretroviral. Sin embargo, otras células de la respuesta inmune que no se estudian normalmente, pueden dar otra idea diferente de la eficacia del tratamiento en la recuperación de la respuesta. En el presente trabajo se detalla la situación inicial y evolución con el tratamiento antiretroviral de células responsables de la respuesta innata (Natural Killer) y de células citotóxicas (CD8CD28), así como de marcadores de activación linfocitaria en pacientes con SIDA y sin tratamiento antiretroviral previo.

Pacientes, Metodología: Se estudiaron 16 pacientes con criterios de SIDA sin tratamiento antiretroviral previo y que iniciaron tratamiento con AZT+3TC+Abacavir. Las poblaciones linfocitarias se midieron por citometría de flujo en un FASC Calibur (BD) utilizando anticuerpos monoclonales directamente marcados con diferentes fluorocromos. : CD4, CD8, CD3-CD56+CD16, CD8+CD28+, CD38, CD95, CD25 y HLA-DR. La carga viral se midió por Roche Amplicor Ultrasensible.

Resultados y Conclusiones. En condiciones basales los pacientes presentaban unos niveles de células NK inferiores a los sujetos sanos ($8,8 \pm 5,6\%$ versus $13,7 \pm 6,4\%$ $p=0,01$). La proporción de células CD8 con fenotipo citotóxico CD8+CD28+ también resultaron inferiores en los pacientes con SIDA ($12,8 \pm 7,6\%$. Valores normales: 19- 80%). Durante 1 año de tratamiento, además de los parámetros de descenso de carga viral y aumento de CD4, se pudo observar un descenso en la hiperactivación tanto de CD4 como de CD8 y que los linfocitos CD8 con fenotipo citotóxico, CD8+CD28+, aumentaban en el 62 % de los pacientes en los que había descenso de carga viral y aumento de células CD4 y CD8. Sin embargo, que las células NK sólo aumentaron en 4 de los 16 pacientes, en los que los CD4 subieron por encima de 300 cels/ul y permanecieron iguales o descendieron en el 68% de los pacientes, probablemente porque las células NK son reservorios del VIH y no es fácil su erradicación. La estabilización de las poblaciones CD4 y la recuperación de la capacidad citotóxica de los linfocitos CD8 pueden ser más importantes que la simple elevación numérica de estas poblaciones.

Limitada eficacia de la triple terapia con zidovudina, lamivudina y abacavir como tratamiento inicial de pacientes con SIDA.

P. Rivas, M. Górgolas, R. García, J. Becares, A. Goyenechea, ML. Fernández-Guerrero. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Introducción: el tratamiento de los pacientes VIH + con la combinación de zidovudina, lamivudina y abacavir (Trizivir) supone una posibilidad atractiva debido a la sencillez del régimen y su tolerancia. La eficacia de esta combinación como tratamiento de inicio en pacientes con estadios avanzados de la enfermedad no ha sido estudiada.

Material y métodos: se incluyeron 43 enfermos con menos de 200 CD4 y/o cualquier enfermedad diagnóstica de SIDA en un estudio prospectivo de 48 semanas. El periodo de inclusión fue de mayo de 2001 a abril de 2002. Un estudio genotípico de resistencias previo detectó mutaciones a alguno de los componentes de la terapia en 3 pacientes y fueron excluidos.

Resultados: 34 hombres y 6 mujeres comenzaron el tratamiento (edad media $40,7 \pm 8,6$ años). La cifra media basal de CD4 fue de 132 ± 92 células/ μ L y la mediana de carga viral basal de 413.436 copias/ml (intervalo intercuartílico: 60.350-671.750). Un 57,5% eran homosexuales, un 20% heterosexuales y un 19% usuarios de drogas vía parenteral. El 30% de los enfermos se incluían en la categoría A3 de la CDC, el 17,5% en la B3, el 15% en la C2 y un 37,5% en la C3. En 9 pacientes (un 22,5%) se retiró el tratamiento por efectos secundarios (4 reacciones de hipersensibilidad, 3 por síntomas gastrointestinales y 2 por anemia). Un paciente retiró el consentimiento y dos fueron perdidos durante el seguimiento. Tras 48 semanas, un 95,6% (22/23) y un 69,5% (16/23) de los pacientes en tratamiento tenían menos de 400 y 20 copias/ml respectivamente. En el análisis por intención de tratar (pérdida o cambio de tratamiento = fallo) un 55% (22/40) y un 40% (16/40) tenían menos de 400 y menos de 20 copias/ml respectivamente. Hubo 6 casos de fracaso virológico, 3 con mala adherencia pero en los otros 3 se objetivó una adherencia mayor del 95% (los 3 tenían una carga viral basal mayor de 100.000 copias/ml). El incremento medio de CD4 fue de 130 ± 109 células/ μ L ($p < 0,001$). La adherencia fue mayor del 90% en 33 de los 40 pacientes. No hubo cambios significativos en el perfil lipídico y hubo un caso de lipodistrofia.

Conclusiones: el tratamiento con Trizivir no parece una opción inicial adecuada para la mayoría de enfermos con SIDA. Observamos una tasa alta de efectos secundarios y, a pesar de una buena adherencia, en una apreciable proporción de pacientes no se consigue un adecuado control virológico.

Prevalencia de la inmunización natural frente a la hepatitis A (HpA) en pacientes con infección por el VIH en Madrid.

M. Górgolas, P. Rivas, A. Goyenechea, J. Alonso, R. García y ML Fernández Guerrero. División de Enfermedades Infecciosas. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid.

Antecedentes: La HpA ha dejado de ser una infección frecuente en nuestro país, de tal forma que los jóvenes carecen de inmunidad natural. Pacientes homosexuales con infección por VIH tienen riesgo de adquirir HpA, por lo que se podrían beneficiar de la administración precoz de la vacuna. El objetivo de este estudio es determinar la edad en la que sería recomendable la vacunación, en esta población.

Métodos: Estudio retrospectivo de 140 pacientes con infección por VIH atendidos en la consulta externa. Se revisaron los datos epidemiológicos, clínicos y analíticos de estos pacientes.

Resultados: El 88 % de los pacientes eran varones, con una media de edad de 38,1 años. Los factores de riesgo de VIH fueron: homosexuales (58,6%), advp (15,7 %) y heterosexuales (15 %). Ciento dos pacientes eran de origen caucásico y 38 Africanos o Latinoamericanos. El 65 % tenían anticuerpos IgG frente a la HpA. La prevalencia entre los caucásicos fue del 51 % y del 85 % en el grupo afro-latinoamericano (9.4) de los positivos del grupo caucásico fue \pm (p=0.15). La edad media (40.2 \pm significativamente superior (p=0.007) al de los afro-latinoamericanos (35.2 \pm 5.5). La proporción de seropositivos en el grupo caucásico aumentaba de forma proporcional con la edad: < 30 años (33 %), 31-40 años (57 %), 41-50 años (68.7 %), >50 años (81.8 %). De tal forma que los sujetos caucásicos menores de 30 años con infección por VIH tienen un mayor riesgo (OR 5.5; 95% IC: 1.2-23.3) de adquirir una hepatitis A aguda que los mayores de 40 años. Aquellos que adquirieron la infección del VIH por vía sexual tuvieron unas tasas de inmunización natural superiores a los advp (61 % vs 38 %, p=0.13).

Conclusión: La vacunación de la hepatitis A es recomendable a pacientes caucásicos menores de 30 años con infección por VIH, ya que la mayoría de ellos no tienen inmunidad adquirida de forma natural.

Comunicaciones a congresos internacionales

Lack of efficacy of zidovudine, lamivudine and abacavir as initial therapy for antiretroviral-naive patients with AIDS

P Rivas, M Górgolas, A Goyenechea¹, R García, J Becares, M L Fernández-Guerrero.
Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

Introduction: Efficacy of zidovudine, lamivudine and abacavir combination (Trizivir) on naive full-blown AIDS patients has not been defined.

Methods: 43 patients with less than 200 CD4 and/or any AIDS defining condition were enrolled in a prospective non-controlled trial from May 2001 to April 2002. 3 patients with primary genotypic resistance to one or more drugs were excluded. Viral load, CD4+ and CD8 + subsets and lipid profile were evaluated.

Results: 34 male and 6 female (mean age 40.7 ± 8.6 years). The mean baseline CD4 count was 132 ± 92 cells/ μ L and median viral load was 413.436 copies/ml (IQR: 60.350-671.750). 57.5% were homosexual, 20% heterosexual and 19% drug abusers. Patients belonged to A3 (30%), B3 (17.5%), C2 (15%) and C3 (37.5%) CDC categories. Nine patients (22.5%) stopped therapy because of side-effects (4 hypersensitivity reactions, 3 gastrointestinal symptoms, 2 AZT-associated anemia) and there were 1 consent withdrawal and 2 patients lost of follow-up. After 48 weeks 95.6% (22/23) and 69.5% (16/23) had < 400 copies/ml and < 20 copies/ml respectively by on-treat analysis and 55% (22/40) and 40% (16/40) had < 400 copies/ml and < 20 copies/ml by intent-to-treat analysis (non-completion = failure). 3 out of the 6 virological failures were associated to poor adherence but the other 3 failures evidenced adherence higher than 95% (all of them with initial VL > 100.000 copies/ml). The mean CD4 increment was 130 ± 109 cells/ μ L from baseline ($p < 0,0001$). Adherence were higher than 90% in 33 out of 40 patients while on treatment. There were not significant changes in total cholesterol, triglycerides, HDL or LDL cholesterol after 48 weeks and only one woman developed limbs lipoatrophy.

Conclusions: Trizivir is not an optimal option for initial therapy in most patients with AIDS or far-advanced HIV infection. We observed a high rate of side-effects and despite a full adherence a subset of subjects do not achieve undetectable viral load.

Abacavir, lamivudine and zidovudine (ABC/3TC/ZDV) in antiretroviral-naïve HIV-infected patients: multicenter observational cohort from Spain.

J Berenguer¹, M J Pérez-Eliás², J M Bellón¹, H Knobel³, **P Rivas-González⁴**, J M Gatell⁵, M Miguélez⁶, J Hernández-Quero⁷, E Ortega⁸, V Soriano⁹, I Santos¹⁰, D Podzamczar¹¹, M Sala¹², M Camba¹³. 1Hosp Gregorio Marañón, Madrid, Spain; 2Hosp Ramón y Cajal, Madrid, Spain; 3Hosp del Mar, Barcelona, Spain; 4Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain; 5Hosp Clinic, Barcelona, Spain; 6Hosp Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, Spain; 7Hosp San Cecilio, Granada, Spain; 8Hosp General Universitario, Valencia, Spain; 9Hosp Carlos III, Madrid, Spain; 10Hosp La Princesa, Madrid, Spain; 11Hosp Bellvitge, Barcelona, Spain; 12Hosp Parc Taulí, Sabadell, Spain; 13Hosp Povisa, Vigo, Spain

Background: The objective of the study was to assess the effectiveness and safety of ABC/3TC/ZDV in antiretroviral-naïve HIV+ patients (Pt).

Methods: Retrospective multicenter cohort of consecutive naïve HIV+ patients (Pt) who initiated ABC/3TC/ZDV and who had at least one follow-up (FU) visit at least 12 wk after treatment (RX) initiation in 71 centers in Spain. We assessed safety, mortality, new AIDS-defining conditions (ADC) and virologic failure (VF). VF was defined by any of the following: a) Fall < 1 Log of HIV viral load (VL) at 12 weeks, b) absence of VL < limit of quantification (LQ) after 24 wk, and c) 2 consecutive VL > LQ after VL < LQ.

Results: 730 Pt were enrolled (Trizivir® = 558, Combivir® + ABC = 93, and ABC + 3TC + ZDV = 79). Median age: 37 years, men 71.2%, injection drug users (IDU) 51.5%, prior ADC 20.7%, methadone use 24.9%, median VL 4.76 Log, median CD4 255 cells/mm³. The safety and effectiveness of ABC/3TC/ZDV are summarized in the table (median FU of 50.5 wk):

Event	No. (%)	Pt/yr	Event x 100 Pt/yr
Interruption of ABC/3TC/ZDV due to AE	104 (14.25)	766	13.57
Suspected ABC hypersensitivity	36 (4.93)	823	4.38
Deaths	10 (1.37)	848	1.18
New ADC	12 (1.64)	837	1.43
Virologic failure (by ITT analysis)	105 (14.38)	776	13.53

Significant factors associated with VF in multivariable Cox analysis were: adherence < 90% (HR 4.76, 95%CI: 3.10 - 7.32), methadone use (HR 1.83, 95%CI: 1.20 - 2.81), and baseline VL (HR 1.68, 95%CI: 1.23 - 2.30 per Log of VL). Factors associated with RX interruption due to AE were: female sex (HR 1.61, 95%CI: 1.04 - 2.49), non-IDU (HR 1.88, 95%CI: 1.02 - 3.44), HCV+ (HR 3.09, 95%CI: 1.66 - 5.76), adherence < 90% (HR 1.78, 95%CI: 1.07 - 2.91), missing visit (HR 2.66, 95%CI: 1.27 - 5.54).

Conclusions: In this large cohort of naïve HIV+ Pt treated with the triple-NRTI regimen of ABC/3TC/ZDV, the frequency of VF was 14.38% (13.53 x 100 Pt/yr). Poor adherence was the strongest factor associated with VF; other factors independently associated with VF were baseline VL and methadone use.

Immunologic reconstitution in full-blown AIDS patients treated with zidovudine, lamivudine plus abacavir or lopinavir/ritonavir

P. Rivas, M. Górgolas, R. García, A. Goyenechea, M.L. Fernández-Guerrero.
Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

Background: Randomized control trials have rarely included patients in advanced stages of the disease. Information about immune reconstitution at this late stage is scarce

Methods: 77 naïve AIDS patients were enrolled. Patients were initially treated with AZT/3TC /ABC (42p, G1) until the results of study ACTG 5095 were released. Since that date 35 patients (G2) were treated with AZT/3TC /lopinavir/ritonavir. Activation markers (CD38, HLA-DR, CD-25) and apoptosis markers (CD95) were performed periodically in CD4 and CD8.

Results: Most patients were Caucasian, homosexual men. Baseline characteristics were similar: CD4 (138 ± 94 vs 116 ± 111 cells/ μ L, ns); median viral load (5.2 vs 5.09 logs, ns). After 48 weeks, the proportion of patients that stopped therapy because of side effects was similar (16.6% in G1 and 17.1% in G2). Two patients in G1 and three in G2 were lost of follow-up. By intent-to-treat analysis (non-completion = failure), 50% (21/42) in G1 vs 57 % (20/35) in G2 had <20 copies/mL and 60% (27/45) in G1 vs 66% (23/35) in G2 ($p=0.19$) had <400 copies/ml. Adherence were >90% in 84% of G1 patients and 91% of G2 patients (ns). The median increment of CD4+ was 139 cells in G1 and 185 in G2 ($p:0.10$). These differences were even higher studying only patients with full virus suppression. A significant decrease in the activation marker CD38 was observed in CD4 and CD8 subset of G2 patients but not in G1. HLA-DR marker decreased in CD4 and CD8 equally in both groups without significant changes in apoptosis marker CD95 in any group.

Conclusions: Our result suggests that the combination of lopinavir/ritonavir/AZT/3TC have superior antiviral activity than AZT/3TC /ABC, with similar tolerance. The CD4 gain tends to be higher in lopinavir/ritonavir treated patients, which could be mediated by a PI-related decrease in lymphocyte activation and independent of the achievement of full virus suppression.

Osteopenia and osteoporosis in antiretroviral naive patients with advanced AIDS

P Rivas, M Akasbi, M Górgolas, M Díaz-Curiel, A Goyenechea, R García, M L Fernández-Guerrero
Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

Background: Highly active antiretroviral therapy (HAART) is a risk factor for osteopenia but HIV infection itself may play a role in the development of bone mineral loss. We tried to determine the prevalence of osteopenia and osteoporosis in AIDS patients before beginning HAART and its relationship with clinical, virological and immunological factors.

Methods: Dual X-ray absorptiometry (DXA) was used to determine the bone mineral density (BMD) of the lumbar spine (L2-L4), neck of the femur and distal radius. World Health Organisation criteria were used to define osteopenia and osteoporosis based on t-score.

Results: 41 male and 8 female (mean age 41 ± 9 years) with less than 200 CD4 cells and/or an AIDS defining condition. The mean CD4 was 124 ± 91 cells/ μ L and median viral load was 159.744 copies HIV-1/ml (IQR: 65.500-571.900). 55.1% of patients (27 out of 49) had osteopenia or osteoporosis at least in one of the three studied locations (12 patients in one region, 11 in two regions and 4 in the three regions). Distal radius was the place more frequently affected, 16 patients (32.7%) with osteopenia and 5 (10%) with osteoporosis at this place. 12 patients (24%) showed osteopenia at neck of the femur and 2 osteoporosis (4%) and 9 patients (18%) had osteopenia and 2 (4%) osteoporosis at lumbar spine. There was no significant association between age, sex, race, smoking habit or HIV risk factor and BMD among our cohort. There were also no significant differences between CD4 count, viral load or AIDS defining illnesses and bone mineral loss. Weight was lower in patients with osteopenia and was significantly related with BMD in femur ($r = 0.470$, $p = 0.001$) and in radius ($r = 0.368$, $p = 0.014$).

Conclusion: Osteopenia is extremely frequent in AIDS naive patients regardless of gender, age, immunological or virological status. Nutrition, calcium and vitamin D intake should be optimized as early as possible, independently of the necessity of antiretroviral therapy.

Evolution of Bone Mineral Density in AIDS Patients on Treatment with Zidovudine, Lamivudine and Abacavir.

P. Rivas, M. Górgolas, M. Díaz-Curiel, A. Goyenechea, R. García, M. L. Fernández-Guerrero. Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

Background: Highly active antiretroviral therapy may be a risk factor for osteopenia in HIV-infected patients. The role of each individual drug on its evolution is currently poorly understood. We sought to determine the impact of Trizivir (AZT+3TC+ABC) on bone mineral mass.

Methods: Dual X-ray absorptiometry (DXA) was used to determine the bone mineral density (BMD) of the lumbar spine (L2-L4), neck of the femur and distal radius in naïve HIV infected patients with AIDS before and after 48 weeks of treatment with AZT+3TC+ABC. World Health Organization criteria were used to define osteopenia and osteoporosis based on t-score.

Results: 16 male and 3 female (mean age 42 ± 8 years) with less than 200 CD4 cells and/or an AIDS defining condition. 63% were Caucasian and 70% homosexual. Mean body mass index was 22.3 ± 2 . The mean CD4+ count was 132 ± 100 cells/ μ L and median viral load was 151.744 copies/mL. At baseline, 15% had osteopenia or osteoporosis at lumbar spine, 36% at neck of the femur and 40% at radius. After 48 weeks on treatment the mean increment of CD4+ was 170 ± 128 cells and 15 out of 19 patients (78.9%) had a viral load < 400 copies/mL. The median loss of BMD was 2.6% (IQR:1.39-3.8) at lumbar spine ($p=0.03$), 2.28% (IQR:0.09-4.1) at femur ($p=0.003$) and 1.74% (IQR:0.6-4.1) at radius ($p=0.011$). All the patients suffered bone loss in at least one location.

Conclusions: Osteopenia and osteoporosis are frequent in naïve AIDS patients. A successful therapy with a triple NRTI regimen such as AZT+3TC+ABC does not avoid bone mineral loss. Preventive measures are needed to alleviate this common complication.

Osteopenia in antiretroviral naive patients with advanced HIV infection.

Rivas P, Górgolas M, Díaz-Curiel M, Goyenechea A, Akasbi M, Malmierca E, Fernández-Guerrero ML.
Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

Background: Highly active antiretroviral therapy (HAART) is a risk factor for osteopenia but HIV infection itself may play a role in the bone mineral development.

Aim: To determine the prevalence of osteopenia and osteoporosis in AIDS patients before beginning HAART and its relationship with clinical, virological and immunological factors.

Methods: Dual X-ray absorptiometry (DXA) was used to determine the bone mineral density (BMD) of the lumbar spine (L2-L4), neck of the femur and distal radius. World Health Organization criteria were used to define osteopenia and osteoporosis based on t-score. Comparison between categorical variables were performed using chi² test and Fisher test when required. Comparisons between continuous variables were performed using T test or non-parametric test when required. Correlations were done using Spearman test.

Results: 33 AIDS patients, (20 without AIDS defining condition and less than 200 CD4/□L and 13 with AIDS related illness). 25 men and 8 female, mean age 41 and 39 years respectively. The mean CD4 was 139 cells/□L and median viral load was 158.484 copies HIV-1/ml. 51% of patients (17 out of 33) had osteopenia or osteoporosis at least in one of the three studied locations (8 patients in one region, 8 in two regions and 1 in the three regions). Distal radius is the place more frequently affected, 9 patients (27%) with osteopenia and 3 (9%) with osteoporosis at this place. 10 patients (30%) showed osteopenia at neck of the femur. 4 patients (12%) had osteopenia and 1 (3%) osteoporosis at lumbar spine. There was no significant association between age, sex, race, smoking habit or HIV risk factor and BMD among our cohort. There were also no significant differences between CD4 count, viral load or AIDS defining illnesses and bone mineral loss. Weight was lower in patients with osteopenia but significant difference was detectable only in femur (p= 0.023).

Conclusions: Osteopenia is extremely frequent in AIDS naive patients regardless of gender, age, immunological or virological status. Nutrition, calcium and vitamin D intake should be optimized as early as possible, independently of the necessity of antiretroviral therapy.

Prevalence of immunization against hepatitis A in HIV infected patients in Madrid (Spain) and its implications for vaccine recommendations

M Gorgolas, **P Rivas**, A Goyenechea, J Alonso, R García, M L Fernández-Guerrero
Infectious Diseases Division/Fundación Jiménez Díaz/Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain

Background: Hepatitis A (HpA) is an extremely common infection in developing countries, but it seldom occurs in rich countries and subjects are not naturally immunized. HIV infected patients are often co-infected with hepatitis C or B virus and those on treatment frequently have liver enzymes elevations. An acute hepatitis A infection in these patients would have devastating consequences. We sought to determine the prevalence of HpA antibodies in an HIV positive cohort of patients in order to establish a guideline for HpA vaccination.

Methods: Retrospective study of 140 HIV infected patients who attended the outpatient clinic in a hospital in Madrid (Spain). Clinical, analytical, serological status and epidemiological data were reviewed.

Results: Eighty eight percent of patients were male with a mean age of 38.1 years. The main HIV risk factors were: homosexual (58.6%), ivdu (15.7%) and heterosexual (15%). One hundred and two patients were of Caucasian origin and 38 were African or Hispanic. 70 out of 108 (65 %) had IgG antibodies against HpA. The prevalence among Caucasian was 51 % and 85 % in African and Hispanic ($p=0.15$). The mean age in the Caucasian group was significantly higher 40.2 ± 9.4 than in the other group 35.2 ± 5.5 ($p=0.007$). Also, the proportion of Caucasian HpA positive patients increased in a stepwise fashion with age: < 30 years (33 %), 31-40 years (57 %), 41-50 years (68.7 %), >50 years (81.8 %). Therefore, Caucasian HIV positive patients <30 years are at higher risk (OR 5.5; 95%IC: 1.2-23.3) of having acute Hepatitis A than those > 40 years. Those who acquired the infection by the sexual route had higher rates of natural HpA immunization (61 % vs 38 % intravenous route, $p=0.13$).

Conclusion: Hepatitis A vaccination is particularly recommended for Caucasian HIV infected patients younger than 30 years of age because most of them are not naturally immunized.

Increase in the Red Cell Distribution Width (RDW) as an indirect marker of adherence during first months of treatment with AZT

P Rivas, A Goyenechea, J Alonso, M Górgolas, R García, M L Fernández-Guerrero
Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

Background: Macrocytosis is a useful tool for assessing adherence to AZT-containing regimens but changes in the Mean Corpuscular Volume (MCV) occurs several months after AZT initiation. Red Cell Distribution Width (RDW) is a coefficient of variation of the Red Blood Cells (RBC) size as determined by automated blood cell counting systems. Changes in RDW occurs earlier than in MCV. We tried to determine the increase in the RDW associated with AZT-containing regimens during the first 4 months of treatment in full adherent patients.

Methods: comparison of basic hematologic parameters, in 30 naive HIV infected patients that initiated a regimen with AZT plus 3TC and Abacavir and had adherence higher than 90%. Data were extracted from a pilot study of efficacy of this regimen in patients with AIDS. Patients with anemia were excluded. We compared RBC indices after 1, 2 and 4 months of treatment and every 4 months thereafter. Repeated measures ANOVA, using Bonferroni adjustment for multiple comparison, was used.

Results: 26 male and 4 female (mean age 40.3 ± 8 years). All of them had less than 200 CD4 cells and/or an AIDS defining condition. Baseline mean hemoglobin were 13.6 ± 1.4 g/dl with mean MCV 91 ± 12.4 fl (normal range: 80-96 fl) and mean RDW $14 \pm 2\%$ (normal range: 11-15%). After one and two months on treatment mean MCV and other RBC indices remained between normal ranges and were not significantly different from baseline. However, RDW significantly increased to $18.2 \pm 3.2\%$ and to $18.5 \pm 3.5\%$ after one and two months on treatment respectively ($p < 0.0001$). Only after four months, MCV were significantly higher than baseline (105 ± 10.5 fl, $p < 0.0001$) with a decrease in mean corpuscular hemoglobin (MCH) and erythrocyte count ($p < 0.0001$) with no changes in hemoglobin level. At this point RDW were $14.3 \pm 2.2\%$ similar to baseline.

Conclusion: RDW may be a simple and easy to perform marker of adherence to AZT- containing regimens during the first months of treatment.