

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Pediatría



**INMUNOSENESCENCIA Y DENSIDAD
MINERAL ÓSEA EN NIÑOS Y
ADOLESCENTES INFECTADOS POR VIH**

TESIS DOCTORAL

Beatriz Jiménez Montero

Madrid, 2016

TESIS DOCTORAL

INMUNOSENESCENCIA Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES INFECTADOS POR VIH

Esta Memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctor en Medicina por:

BEATRIZ JIMÉNEZ MONTERO

Directores de Tesis:

Dra. M^a Ángeles Muñoz Fernández
Doctora en Ciencias Biológicas y Doctora en Medicina y Cirugía
Sección Inmunología: Laboratorio Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid.
Directora del BioBanco VIH HGM

Dr. José Tomás Ramos Amador
Doctor en Medicina y Cirugía
Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Clínico San Carlos de Madrid
Profesor titular, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina de Universidad Complutense de Madrid

Tutora

Dra. M^a José Mellado Peña
Doctora en Medicina y Cirugía
Servicio de Pediatría Hospitalaria, Enfermedades Infecciosas y Tropicales Pediátricas del Hospital Universitario La Paz de Madrid
Profesora asociada, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid

A mi Padre

A Maribel de José

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a todos los niños y adolescentes con infección por VIH y a sus familias, que son los protagonistas de este viaje.

Me gustaría dar las gracias a todos los pediatras que con tanto tesón y amor cuidan de estos niños: Pepa, Miluca, Pablo, Maribel, Dani, Marisa, Jesús, Mar, Lola, Jorge, José Tomás, Luis, Sara... Y al equipo multidisciplinar que les rodea. Gracias a Maite, Teresa, Bene y Marisa por su disposición, colaboración y paciencia.

Gracias a mis directores de tesis, Maribel de José, M^a Ángeles y José Tomás. Gracias por vuestra confianza en mí y apoyo.

Gracias a Talía, por su orientación, consejos y ayuda para impulsar este proyecto desde el primer momento.

Gracias al equipo de Laboratorio de Inmuno-Biología y Biobanco del H. Gregorio Marañón, en especial a Laura, por enseñarme de citometrías y porque sin tu colaboración esta Tesis no hubiera sido posible.

A José María por su ayuda en la estadística y a Carolina por su revisión del inglés.

A mi familia, por vuestro apoyo incondicional.

A mi padre, por todo lo que me has enseñado, por creer en mí, por transmitirme entusiasmo para acabar esta tesis a pesar de tu enfermedad. Sé que hubieras estado muy orgulloso de este día.

A Christof y Ana, a los que esta Memoria les ha robado muchas horas. Gracias por vuestro amor.

RESUMEN

Introducción:

Los pacientes con infección por VIH tienen mayor prevalencia de disminución de la densidad mineral ósea (DMO) que la población general. La etiología de la disminución de la DMO en la infección por VIH parece ser multifactorial, incluyendo factores comunes a la población general, así como el efecto de la infección crónica por VIH y de los antirretrovirales (ARV).

La inflamación crónica, la activación y senescencia del sistema inmune asociadas a la infección por VIH se han implicado en la patogénesis de varias comorbilidades no-SIDA. Sin embargo, el papel de estos fenómenos no está bien establecido en el hueso. Existen escasos estudios en adultos infectados por VIH que evalúen la activación y senescencia del sistema inmune en relación con la DMO, con resultados no concluyentes, ninguno en la población pediátrica infectada por VIH por transmisión vertical.

Objetivos:

Como objetivo primario, se pretende evaluar si la disminución de la DMO en población pediátrica infectada por VIH por transmisión vertical está relacionada con la activación y senescencia del sistema inmune asociada a la infección VIH.

Como objetivos secundarios se plantea determinar la prevalencia de DMO baja y posibles factores de riesgo en una cohorte de niños y adolescentes infectados por VIH; así como evaluar si un estado proinflamatorio estimado a través de marcadores séricos de inflamación se asocia a DMO baja; y evaluar la relación entre la vitamina D y la senescencia y activación del sistema inmune.

Métodos:

Se realizó un estudio observacional de corte transversal en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical en seguimiento en las consultas externas de los hospitales de la Comunidad de Madrid, pertenecientes a la Cohorte de Madrid de Niños y Adolescentes Infectados por VIH, integrada en CoRISpe, Cohorte Nacional de la Red de Investigación en Sida Pediátrico. Se incluyeron todos los pacientes menores o igual a 20 años de edad con densitometría ósea (DXA) reciente en el momento del

inicio del estudio o realizada durante el periodo de inclusión. Los criterios de exclusión fueron: edad > 20 años, no infección vertical, no DXA, no firma de consentimiento de CoRISpe y BioBanco.

La DMO se midió mediante DXA a nivel de la columna lumbar, usando 2 tipos de escaners Hologic® (Hologic Inc., Bedford, MA, USA) o Lunar Prodigy® (GE Healthcare, UK) según los hospitales participantes. Se realizó ajuste del Z-score de DMO por la talla usando el método de Z-score de talla. Se consideró DMO baja para la edad cronológica cuando Z-score ≤ -2 DE de acuerdo a la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica ("International Society for Clinical Densitometry", ISCD).

Se obtuvieron muestras de sangre de los pacientes por venopunción. Una parte se procesó en los hospitales participantes para determinación de carga viral (CV), recuento de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ y determinación de niveles de vitamina D, PTH y fosfatasa alcalina dentro de los procedimientos rutinarios. Además, se solicitó a los pacientes o padres/tutores el consentimiento informado para poder utilizar las muestras para investigación. Las muestras de sangre, tras la firma de la documentación pertinente, se enviaron al BioBanco VIH del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

En un subgrupo de pacientes seleccionados aleatoriamente, se determinaron marcadores de activación y senescencia en linfocitos T periféricos CD4⁺ y CD8⁺ en la Sección de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, mediante uso de anticuerpos monoclonales validados y citometría de flujo. La activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se caracterizó como coexpresión de los marcadores HLADR⁺ y CD38⁺, y la inmunosenescencia por la expresión de los marcadores CD28⁻ y CD57⁺.

Además, en un subgrupo de pacientes seleccionados aleatoriamente, se analizaron marcadores de inflamación sérica (proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCRhs) e interleuquina-6, IL-6) y marcadores de activación de monocitos (CD14 soluble, CD14s). La determinación se realizó a partir de muestras congeladas de suero utilizando kits comerciales de ELISA.

Los resultados obtenidos del análisis descriptivo se expresaron como medianas y rango intercuartílico (RIQ) en el caso de variables cuantitativas y como frecuencia absoluta y porcentajes en el caso de variables cualitativas.

Para el análisis comparativo, se utilizó el test de Chi cuadrado o test exacto de Fisher para variables categóricas y el test U de Mann Whitney para variables cuantitativas. Las correlaciones entre variables cuantitativas se evaluaron mediante los coeficientes de correlación de Spearman.

Para la evaluación de los predictores de DMO baja, se realizó análisis multivariante mediante modelos de regresión lineal múltiple a través del procedimiento stepwise. Se incluyeron como variables independientes aquellas variables que en el análisis univariante mostraron significación estadística ($p < 0,05$) y/o fueron consideradas clínicamente significativas.

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS ("Statistical Package for the Social Sciences") (v.20) (SPSS, Chicago, IL, EE.UU). Se consideró estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$.

Resultados:

Se incluyeron 98 pacientes. La mediana de edad fue 15,9 años (RIQ: 12,9-17,0), 69 (70,4%) eran mujeres y 70 (71,4%) de etnia caucásica. Según la clasificación pediátrica de los CDC 1994, 32 pacientes (32,7%) pertenecían a categoría clínica C y 54 (55,1%) a la categoría inmunológica 3. Catorce pacientes (14,3%) tenían algún grado de encefalopatía, precisando dos de ellos silla de ruedas. En el momento de la DXA, la mediana de linfocitos T CD4⁺ fue de 759 cels/mm³ (RIQ: 573-1037) y 79 pacientes (80,6%) tenían CV <50 copias/mL. Todos los pacientes menos uno estaban en tratamiento antirretroviral (97/98, 99%) con una mediana de duración de 12 años (RIQ: 8,8-14,2). Veintisiete pacientes (27,6%) recibían tenofovir (TDF) en el momento de la DXA (32,7% lo habían recibido previamente). Treinta pacientes (32,6%) tuvieron deficiencia de vitamina D (25-OH vitamina D < 20 ng/mL) y 9 (11%) presentaron niveles elevados de PTH (> 65 pg/mL).

La mediana de Z-score de DMO a nivel lumbar fue -0,8 (RIQ: -1,4; 0,1) y tras ajuste por la talla -0,3 (RIQ: -1,0; 0,5). La proporción de pacientes con Z-score de DMO ≤ -2 fue 15,3% (15/98), y tras ajuste por la talla 4,1% (4/98).

Se encontró correlación positiva de Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) con Z-score de índice de masa corporal (IMC) ($r = +0,256$, $p = 0,011$), cociente CD4/CD8 ($r = +0,205$, $p = 0,043$) y nadir de CD4 ($r = +0,240$, $p = 0,017$); y correlación negativa con el tiempo de inmunosupresión grave (meses con CD4 < 200 cel./mm³) ($r = -0,320$, $p = 0,002$) y niveles de PTH ($r = -0,256$, $p = 0,021$). No se detectaron otras correlaciones significativas.

Tenían menor ZDMOtalla los pacientes con PTH >65 pg/mL comparado con aquellos con niveles normales de PTH (-1,2 (RIQ:-2,1,-0,5 vs. -0,1 (RIQ:-0,8, 0,5), $p = 0,004$). Así mismo, los pacientes con estadio inmunológico CDC 3 tenían menor ZDMOtalla comparado con aquellos con estadio inmunológico CDC 1-2 (-0,5 (RIQ:-1,2, 0,3) vs. 0,1 (RIQ:-0,6, 0,8), $p = 0,029$). No se detectaron otras asociaciones significativas.

Para explorar factores predictores de DMO baja se realizó un análisis multivariante, utilizando como variable dependiente el ZDMOtalla y se incluyeron como variables independientes: edad, sexo, etnia caucásica, encefalopatía, estadio puberal de Tanner 4-5, nadir de CD4, tiempo de supresión viral, recuento de linfocitos T CD4, cociente CD4/CD8, Z-score de IMC, exposición acumulada a ARV, exposición acumulada a TDF y exposición acumulada a inhibidores de la proteasa. Solo el nadir de CD4 ($B = 0,099$ por cada aumento de 100 cel./mm³, IC 95%: 0,021-0,177, $p = 0,013$) fue factor predictor asociado a ZDMOtalla.

Se evaluaron marcadores de activación y senescencia en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ en un subgrupo de 54 de los 98 pacientes. No se encontraron correlaciones significativas entre la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺) o senescentes (CD28⁻CD57⁺) y el Z-score de DMO con o sin ajuste por la talla.

Se evaluaron marcadores de inflamación (PCRhs e IL-6) y marcadores de activación de monocitos (CD14s) en un subgrupo de 24 de los 98 pacientes incluidos en el estudio. No se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre estos marcadores y el Z-score de DMO con o sin ajuste por la talla.

En el grupo de pacientes con inmunofenotipado ($n = 54$), existía disponible el dato sobre vitamina D en 51 de los 54 pacientes. Se analizaron las correlaciones entre vitamina D y la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺) y senescentes (CD28⁻CD57⁺), no siendo estadísticamente significativa ninguna de ellas. Los pacientes

con deficiencia de vitamina D tuvieron menor proporción de linfocitos T CD8⁺ senescentes (11,6 % (RIQ: 9,7-21,0) vs. 21,1% (RIQ 12,0-27,5), p=0,037).

Conclusiones:

La prevalencia de DMO baja en la cohorte de 98 niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical en la Comunidad de Madrid fue moderada (15%), disminuyendo al 4% tras ajuste por la talla.

El nadir de CD4, pero no la activación ni senescencia de linfocitos T periféricos, fue un factor predictor independiente de DMO baja.

No se ha encontrado relación entre DMO y marcadores séricos de inflamación (PCRhs, IL-6, CD14s).

Los pacientes con deficiencia de vitamina D mostraron menor proporción de linfocitos T CD8⁺ senescentes.

Se necesitan estudios prospectivos y de mayor tamaño muestral para mejorar el conocimiento de la patogénesis de la DMO baja en la infección vertical.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIH.....	3
1.1.1. Situación actual en el mundo.....	3
1.1.2. Situación actual en España.....	7
1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIH.....	10
1.3. INFECCIÓN PEDIÁTRICA POR VIH.....	13
1.3.1. Transmisión vertical.....	13
1.3.2. Historia natural.....	13
1.3.3. Clasificación de la infección por VIH pediátrica.....	14
1.3.4. Diagnóstico de la infección.....	18
1.3.5. Tratamiento antirretroviral.....	19
1.4. ALTERACIONES DEL METABOLISMO ÓSEO EN VIH.....	25
1.4.1. Osteonecrosis.....	26
1.4.2. Osteomalacia.....	26
1.4.3. Disminución de la densidad mineral ósea y osteoporosis.....	27
1.5. INFECCIÓN VIH Y EL SISTEMA INMUNE.....	39
1.5.1. Respuesta inmunitaria frente a la infección por VIH.....	39
1.5.2. Cambios inmunológicos por la infección por VIH: Activación y Senescencia.....	41
1.6. VITAMINA D Y SISTEMA INMUNE.....	45
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS.....	47
2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	49
2.2. HIPÓTESIS.....	49
3. OBJETIVOS.....	51
3.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	53

3.2.	OBJETIVOS SECUNDARIOS	53
4.	PACIENTES Y MÉTODOS.....	55
4.1.	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	57
4.2.	POBLACIÓN DE ESTUDIO	57
4.3.	VARIABLES DE ESTUDIO.....	58
4.3.1.	Variables principales	58
4.3.2.	Variables secundarias	58
4.4.	ANÁLISIS DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA: DENSITOMETRÍA ÓSEA.....	60
4.5.	TÉCNICAS DE LABORATORIO	61
4.5.1.	Cuantificación de carga viral.....	62
4.5.2.	Cuantificación de linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺ en sangre total.....	62
4.5.3.	Marcadores de metabolismo óseo: Vitamina D, PTH y Fosfatasa alcalina sérica.....	62
4.5.4.	Marcadores de senescencia y activación en linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺ ...	63
4.5.5.	Marcadores de inflamación y activación séricos.....	63
4.6.	DATOS ANTROPOMÉTRICOS	64
4.7.	DESARROLLO DEL ESTUDIO	64
4.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	65
4.9.	ASPECTOS ÉTICOS	66
5.	RESULTADOS.....	69
5.1.	ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE LA DISMINUCIÓN DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y SU RELACIÓN CON VARIABLES CLÍNICAS	71
5.1.1.	Descripción de las características epidemiológicas, clínicas e inmunológicas de los pacientes	71
5.1.2.	Prevalencia de Densidad Mineral Ósea disminuida	76
5.1.3.	Relación de Densidad Mineral Ósea y variables clínicas.....	77

5.2.	ANÁLISIS DE SENESCENCIA/ACTIVACIÓN INMUNE Y SU RELACIÓN CON DENSIDAD MINERAL ÓSEA	94
5.2.1.	Características de los pacientes	94
5.2.2.	Análisis de Densidad Mineral Ósea sin ajustar por la talla	96
5.2.3.	Análisis de Densidad Mineral Ósea ajustada por la talla	99
5.3.	ANÁLISIS DE ESTADO PROINFLAMATORIO Y SU RELACIÓN CON DENSIDAD MINERAL ÓSEA	102
5.4.	ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE VITAMINA D Y ACTIVACIÓN Y SENESCENCIA INMUNE	105
6.	DISCUSIÓN.....	109
6.1.	FACTORES DE RIESGO DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA BAJA.....	113
6.2.	ACTIVACIÓN, SENESCENCIA E INFLAMACIÓN	122
6.3.	VITAMINA D Y ACTIVACIÓN Y SENESCENCIA INMUNE.....	129
6.4.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	131
7.	CONCLUSIONES.....	133
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	137
9.	ANEXOS	161
9.1.	ANEXO 1 Clasificación de los CDC 1994 de la infección pediátrica por VIH.....	163
9.2.	ANEXO 2 Resumen de los estudios publicados que evalúan la DMO/CMO en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.....	165

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los CDC 1994 de la infección pediátrica por VIH. Categorías clínicas.....	15
Tabla 2. Clasificación de los CDC 1994 de la infección pediátrica por VIH . Categorías inmunológicas.....	16
Tabla 3. Clasificación de los CDC 2014 de la infección por VIH. Estadios de la infección por VIH basado en el recuento de linfocitos T CD4 ⁺ según la edad.	17
Tabla 4. Clasificación de los CDC 2014 de la infección por VIH. Enfermedades oportunistas definitivas de Estadio 3.....	18
Tabla 5. Recomendaciones de inicio de TAR según las diferentes sociedades.....	21
Tabla 6. Pautas de elección para la terapia antirretroviral de inicio según las diferentes sociedades.....	22
Tabla 7. Criterios densitométricos de la Organización Mundial de la Salud (OMS). ...	28
Tabla 8. Efecto de las varias citoquinas sobre los osteoblastos y osteoclastos.	31
Tabla 9. Combinaciones de fármacos antirretrovirales que recibían los pacientes en el momento del estudio.....	73
Tabla 10. Características de los pacientes con DMO baja comparados con aquellos con DMO normal sin realizar ajuste por talla.	78
Tabla 11. Características de los pacientes con DMO baja comparados con los pacientes con DMO normal tras ajuste de talla.....	90
Tabla 12. Relación de Z-score de DMO ajustado por la talla con variables categóricas.	91
Tabla 13. Modelo multivariante mediante regresión lineal múltiple, procedimiento stepwise, con Z-score de DMO como variable dependiente.	92
Tabla 14. Modelo multivariante mediante regresión lineal múltiple, procedimiento stepwise, con Z-score de DMO ajustado por la talla como variable dependiente.....	93
Tabla 15. Características del subgrupo de pacientes incluidos en el análisis de inmunofenotipado (n=54) y del total de pacientes del estudio (n=98).....	95
Tabla 16. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺	96
Tabla 17. Modelo multivariante con variable dependiente Z-score de DMO.	99

Tabla 18. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal tras ajuste por la talla en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺	99
Tabla 19. Características del subgrupo de pacientes incluidos en el análisis de marcadores de inflamación (n=24) y del total de pacientes del estudio (n=98).	103

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número estimado de adultos y niños que viven el mundo con VIH en el 2014.	3
Figura 2. Número de personas que viven con la infección por VIH en el mundo 1990-2014.	4
Figura 3. Prevalencia estimada del número de adultos (15-49 años) con la infección por VIH en el mundo 1990-2014.	4
Figura 4. Número de fallecimientos relacionados con el SIDA en el mundo 1990-2014.	5
Figura 5. Número anual de nuevas infecciones de VIH en el mundo 1990-2014.....	5
Figura 6. Número de niños (0-14 años) que viven con la infección por VIH en el mundo 1990-2014.....	6
Figura 7. Casos de SIDA en España en 2014 por sexo.	7
Figura 8. Casos de SIDA en España por vía de transmisión. Periodo 2005-2014.	8
Figura 9. Situación de los pacientes pediátricos con infección por VIH registrados en CoRISpe a diciembre del 2014.....	9
Figura 10. Nuevos diagnósticos de infección por VIH pediátrica registrados en CoRISPE. Periodo 2004-2014.....	9
Figura 11. Ciclo de replicación del virus VIH en la célula diana.....	11
Figura 12. Curso de la infección por VIH en adultos.....	12
Figura 13. Microarquitectura de hueso.....	27
Figura 14. Sistema osteoprotegerina-RANK-RANKL en el remodelado óseo.....	31
Figura 15. Cambios en la densidad mineral ósea a lo largo de la vida.....	32
Figura 16. Hipotética evolución de la densidad mineral ósea en la infección VIH adquirida perinatalmente o en etapas tempranas de la vida.....	33
Figura 17. Cambios en la densidad mineral ósea a nivel de la columna lumbar según seroestatus en el estudio ACTG A5318.....	34
Figura 18. Cambios en la carga viral y linfocitos T CD8 ⁺ citotóxicos en adultos y en niños.	40
Figura 19. Patogénesis de la hiperactivación y senescencia precoz del sistema inmune asociada a la infección por VIH.	45
Figura 20. Etnia y sexo de los 98 pacientes incluidos en el estudio.....	71

Figura 21. Categorías clínicas e inmunológicas de los 98 pacientes según la clasificación pediátrica de los CDC 1994.	72
Figura 22. Tratamiento antirretroviral en el momento de la DXA.....	72
Figura 23. Los diferentes antirretrovirales que recibían los pacientes en el momento de la DXA.....	74
Figura 24. Número de pacientes con hipovitaminosis D en el momento del estudio. ..	74
Figura 25. Prevalencia de PTH elevada en los pacientes con deficiencia de vitamina. 75	
Figura 26. Proporción de pacientes con Z-score de DMO ≤ -1 , $\leq -1,5$ y ≤ -2 antes y después del ajuste por la talla.	76
Figura 27. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal sin ajuste por la talla respecto a variables demográficas y antropométricas.....	79
Figura 28. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal sin ajuste por la talla respecto a variables relativas a la infección por VIH.....	80
Figura 29. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal sin ajuste por la talla respecto al tratamiento antirretroviral.	82
Figura 30. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal sin ajuste por la talla respecto a vitamina D y niveles de PTH.	83
Figura 31. Correlaciones de Z-score de DMO y Z-score de DMO ajustado por la talla con variables demográficas y antropométricas.....	84
Figura 32. Correlaciones de Z-score de DMO y Z-score de DMO ajustado por la talla con el recuento de linfocitos T CD4 ⁺ , cociente CD4/CD8 y CV en el momento de la DXA.	85
Figura 33. Correlaciones de Z-score de DMO y Z-score de DMO ajustado por la talla con las variables de nadir de CD4, tiempo de inmunosupresión grave y tiempo de supresión viral	86
Figura 34. Correlaciones de Z-score de DMO y Z-score de DMO ajustado por talla con el tratamiento antirretroviral.....	87
Figura 35. Correlaciones de Z-score de DMO y Z-score de DMO ajustado por talla con variables del metabolismo óseo (vitamina D, PTH y fosfatasa alcalina sérica, ingesta de vitamina D).....	88
Figura 36. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal tras ajuste por la talla respecto a nadir de CD4 y tiempo de inmunosupresión grave.	89

Figura 37. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal sin ajustar por la talla en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺	97
Figura 38. Correlaciones de Z-score de DMO y marcadores de activación y senescencia de linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺	98
Figura 39. Comparación entre los pacientes con DMO baja y los pacientes con DMO normal tras ajuste por la talla en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺	100
Figura 40. Correlaciones de Z-score de DMO ajustado por la talla y marcadores de activación y senescencia de linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺	101
Figura 41. Correlaciones entre DMO y marcadores de inflamación (PCRhs e IL-6) y de activación de monocitos (CD14s) en 24 pacientes.....	104
Figura 42. Correlaciones entre vitamina D y la frecuencia de linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺ con marcadores de activación y senescencia en 51 pacientes.....	106
Figura 43. Comparación de marcadores de activación y senescencia de linfocitos T CD4 ⁺ y CD8 ⁺ en los 18 pacientes con deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL) y los 33 pacientes sin deficiencia de vitamina D (≥ 20 ng/mL) en el grupo de 51 pacientes con datos sobre vitamina D.....	107

ABREVIATURAS

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
ARV	Antirretrovirales
ATZ	Atazanavir
AZT	Zidovudina
BMAD	Densidad mineral ósea aparente
CD14s	CD14 soluble
CMO	Contenido mineral óseo
CMV	Citomegalovirus
CV	Carga viral
d4T	Estavudina
ddI	Didanosina
DMO	Densidad mineral ósea
DRV	Darunavir
DXA	Densitometría ósea
EFV	Efavirenz
ETR	Etravirina
EE.UU.	Estados Unidos
EVG	Elvitegravir
FPV	Fosamprenavir
FTC	Emtricitabina
IL-6	Interleucina 6
IDV	Indinavir
IMC	Índice de masa corporal
ITIAN	Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleótidos
ITINN	Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleótidos
IP	Inhibidores de la Proteasa
IP/r	Inhibidores de la Proteasa potenciado con ritonavir
ISCD	International Society for Clinical Densitometry
LPV	Lopinavir potenciado
MVC	Maraviroc
NVP	Nevirapina
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPG	Osteoprotegerina
PCRhs	Proteína C reactiva de alta sensibilidad
PMO	Pico de masa ósea
PTH	Paratohormona
QUS	Ultrasonografía cuantitativa
RAL	Raltegravir
RANKL	Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SQV	Saquinavir
TCC	Tomografía axial computarizada cuantitativa

TAF	Tenofovir alafenamida
TAR	Tratamiento antirretroviral
TARGA	Tratamiento antirretroviral de gran actividad
TDF	Tenofovir
T_{EMRA}	Linfocitos T de memoria efectora RA
T_{Reg}	Linfocitos T reguladores
TPV	Tipranavir
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
ZDMO	Z-score de DMO
ZDMOtalla	Z-score de DMO ajustado por Z-score de talla
ZDV	Zidovudina

1. INTRODUCCIÓN

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) constituye, después de más de 30 años de pandemia, uno de los grandes retos de la medicina del siglo XXI. El Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida (SIDA) fue descrito por primera vez en 1981, dos años más tarde se aisló el VIH y en 1984 se demostró como agente causal de SIDA.

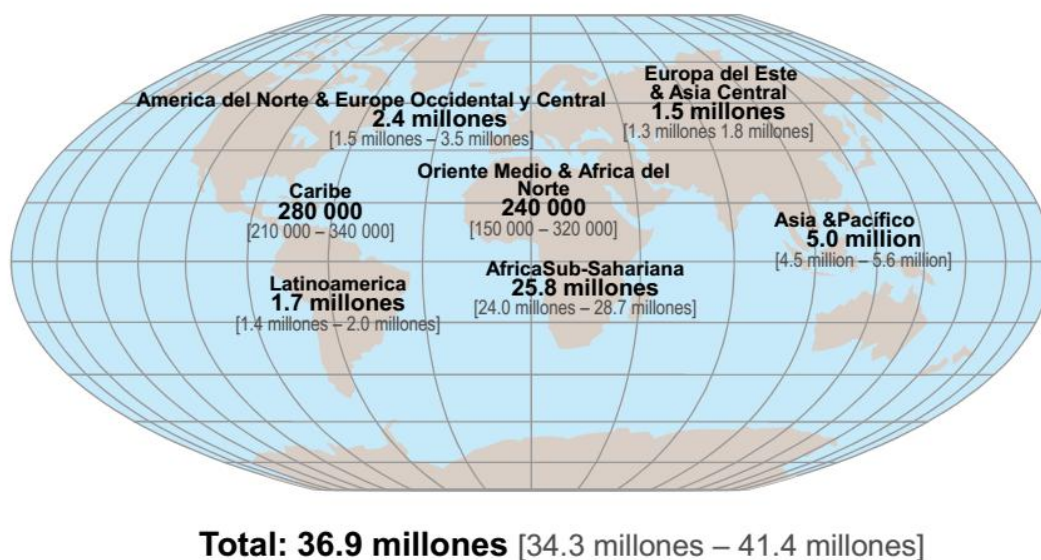
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIH

1.1.1. Situación actual en el mundo

La infección por VIH continúa siendo un problema de salud mundial de gran magnitud. Desde inicio de la pandemia, el VIH ha provocado 39 millones de fallecimientos en todo el mundo¹ y ha generado profundos cambios demográficos y sociales en los países más afectados.

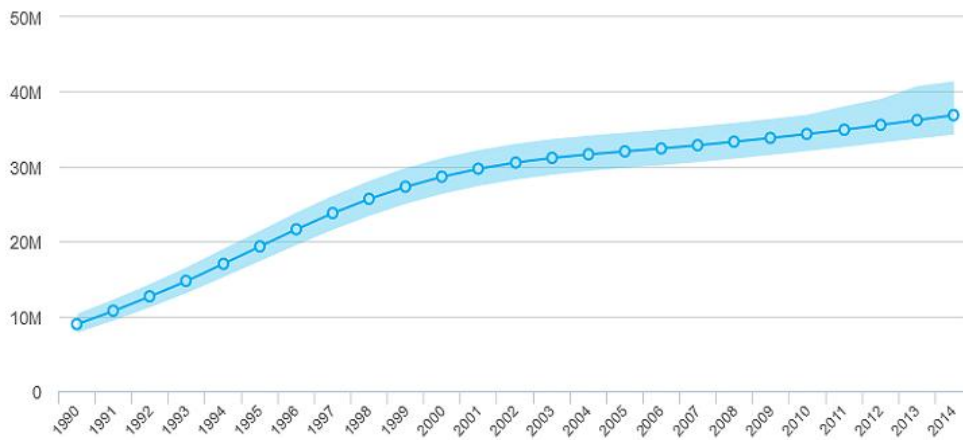
A finales de 2014 se estima que 36,9 millones de personas vivían con la infección por VIH a nivel mundial, de los cuales 2,6 millones eran niños menores de 15 años. En el año 2014 se registraron 2 millones de nuevas infecciones (220.000 en niños) y 1,2 millones de muertes relacionadas con el SIDA en todo el mundo (150.000 niños).^{2, 3}

Figura 1. Número estimado de adultos y niños que viven el mundo con VIH en el 2014.



Fuente: UNAIDS.⁴

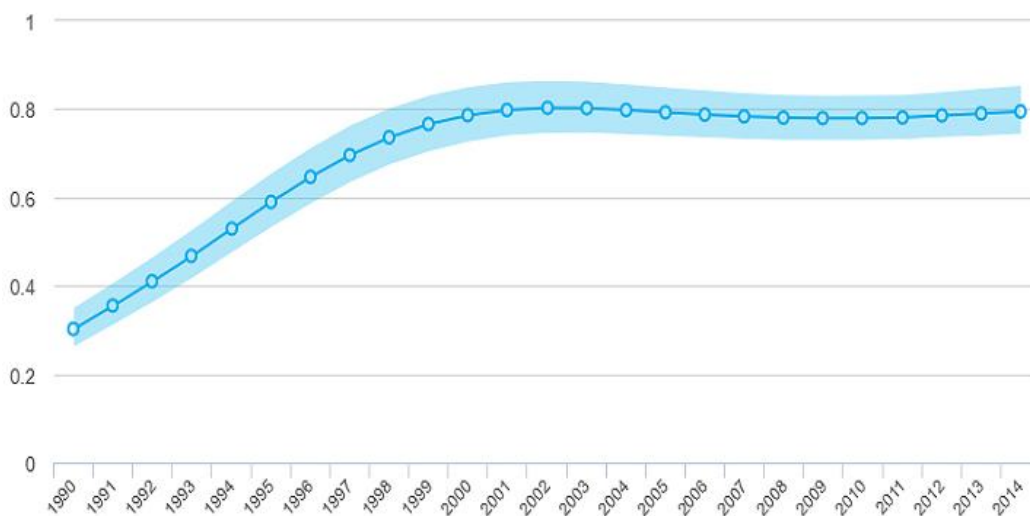
Figura 2. Número de personas que viven con la infección por VIH en el mundo 1990-2014 (Millones).



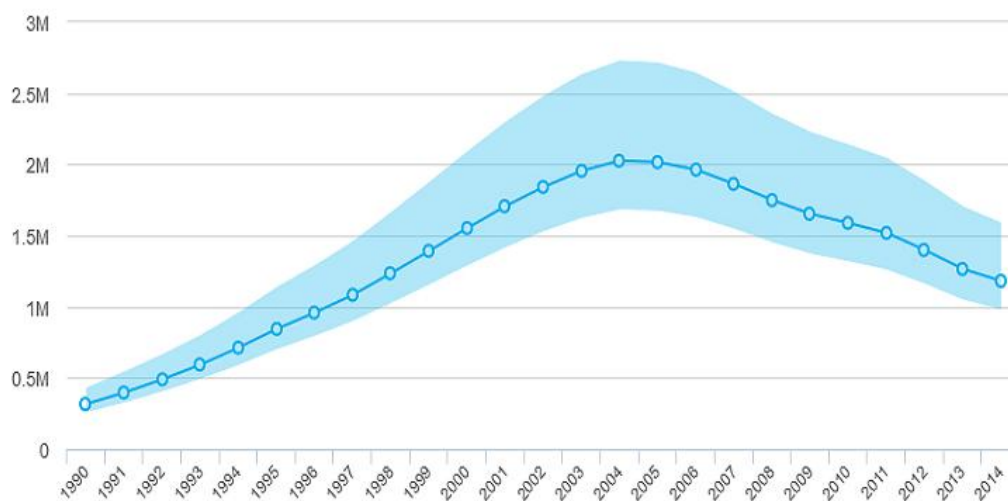
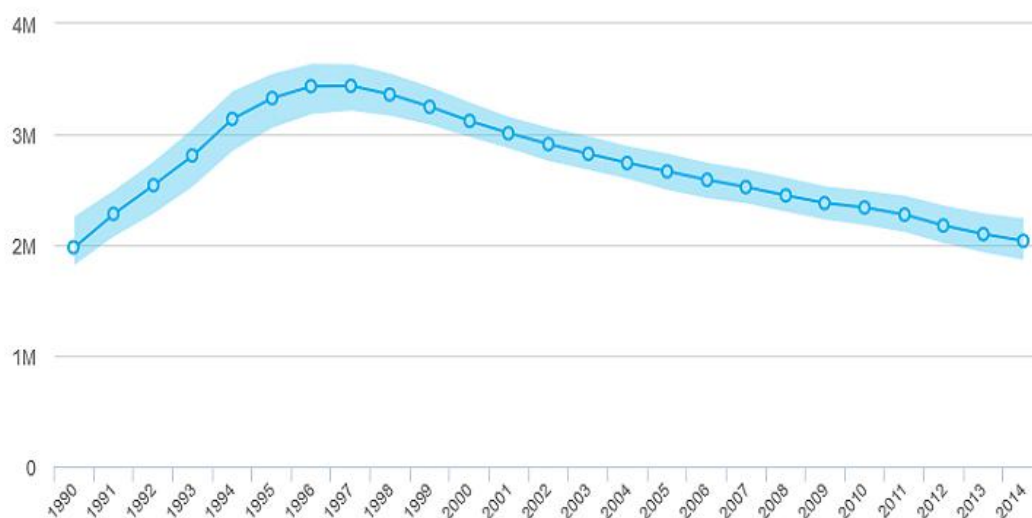
Fuente: UNAIDS.⁴

La prevalencia global se ha estabilizado y los casos de nuevas infecciones han disminuido un 35% respecto al año 2000 (en niños un 58%), así como los casos de muerte relacionados con SIDA, que han disminuido un 42% respecto al pico alcanzado en el 2005. Sin embargo, el número de personas con infección por VIH continúa aumentando debido a los tratamientos que prolongan la esperanza de vida, a la disminución de los fallecimientos y por las nuevas infecciones, que aunque la incidencia ha disminuido sigue siendo muy alta.^{2, 3}

Figura 3. Prevalencia estimada del número de adultos (15-49 años) con la infección por VIH en el mundo 1990-2014.



Fuente: UNAIDS.⁴

Figura 4. Número de fallecimientos relacionados con el SIDA en el mundo 1990-2014.Fuente: UNAIDS.⁴**Figura 5.** Número anual de nuevas infecciones de VIH en el mundo 1990-2014.Fuente: UNAIDS.⁴

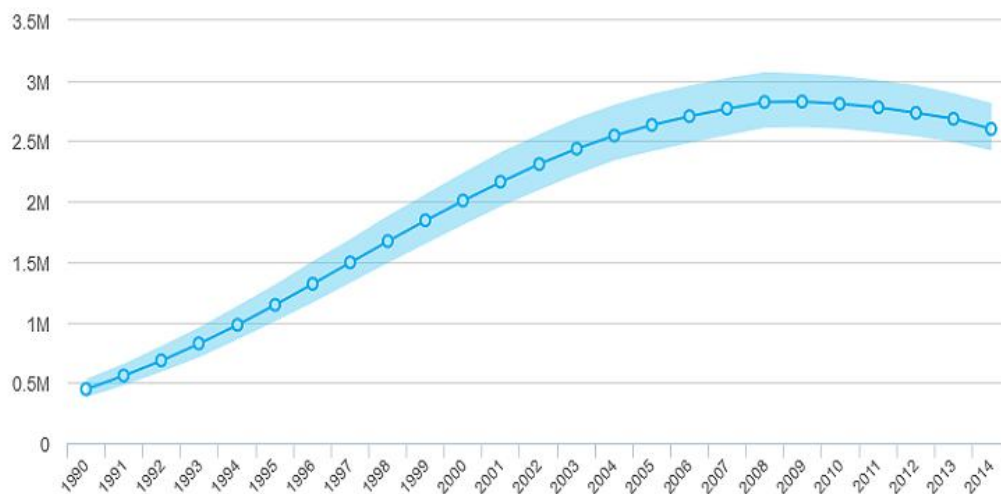
África subsahariana sigue siendo el área más afectada por la epidemia, con el 70% de los infectados, 70% de las nuevas infecciones y el 66% de los fallecimientos, y donde casi 1 de cada 25 adultos (4,8%) viven con el VIH. En 2014 se estima que 25,8 millones de personas en África subsahariana estaban infectadas por VIH, de los cuales 2,3 millones eran niños y 2,8 millones jóvenes (15-24 años). En 2014 790.000 personas murieron por causas relacionadas con SIDA en esta región, que debido al tratamiento antirretroviral (TAR) ha disminuido un 48% respecto a 2004. Lamentablemente la cobertura del tratamiento alcanza solo el 41% de todas las personas que viven con VIH

en África Subsahariana y aún el 25% de las mujeres infectadas no recibieron TAR durante la gestación o lactancia.^{2,3}

En el resto de continentes, el segundo afectado es Asia y el Pacífico con 5 millones de personas que vivían con VIH en el 2014. En Europa Centro-Occidental y América del Norte vivían 2,4 millones de infectados por VIH, en Latinoamérica 1,7 millones y en Europa del Este y Asia Central 1,5 millones. África del Norte y Oriente Medio es la región con menor prevalencia de personas infectadas (240.000), sin embargo ha aumentado los casos de nuevas infecciones. Es preocupante que siga habiendo un aumento de las nuevas infecciones en determinadas regiones del mundo: un 26% en Oriente Medio y África del Norte y un 30% en Europa del Este y Asia Central respecto 2004.^{2,3}

Enfocando en la población pediátrica, el número de niños menores de 15 años que viven con VIH a nivel mundial aumentó de 1,6 millones en 2001 a 2,6 millones en 2014. Casi el 88% vive en África subsahariana. Además, se estima que más del 90% de los niños que viven con el VIH contrajeron el virus durante el embarazo, el parto o la lactancia, todas formas de transmisión del VIH que pueden prevenirse. Por otra parte, los niños tienen un tercio menos de probabilidades de recibir TAR respecto a los adultos (32% vs. 41%).^{2,3}

Figura 6. Número de niños (0-14 años) que viven con la infección por VIH en el mundo 1990-2014.



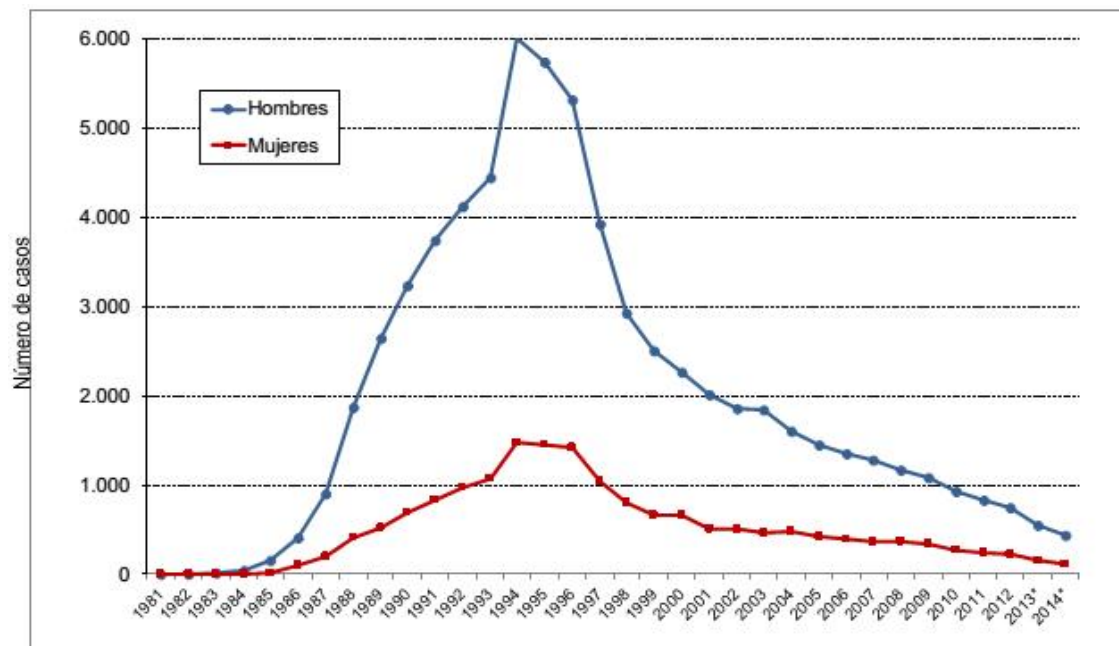
Fuente: UNAIDS.⁴

1.1.2. Situación actual en España

En España se estima que había 150.00 personas con la infección por VIH en el año 2013, con una prevalencia de 0,4% (0,4-0,5).¹

Desde el inicio de la epidemia se han diagnosticado 84.679 casos de SIDA en España. En el 2014 se registraron 444 casos de SIDA, que corregido por retraso de notificación se estima en 557 casos. Tras alcanzar su cenit a mediados de la década de los 90, el número de casos notificados de SIDA ha experimentado un progresivo declive, de forma que los notificados en 2014 suponen un descenso del 91,7% respecto a los notificados en 1996, año previo a la generalización de los tratamientos antirretrovirales de gran actividad (TARGA).⁵

Figura 7. Casos de SIDA en España en 2014 por sexo.

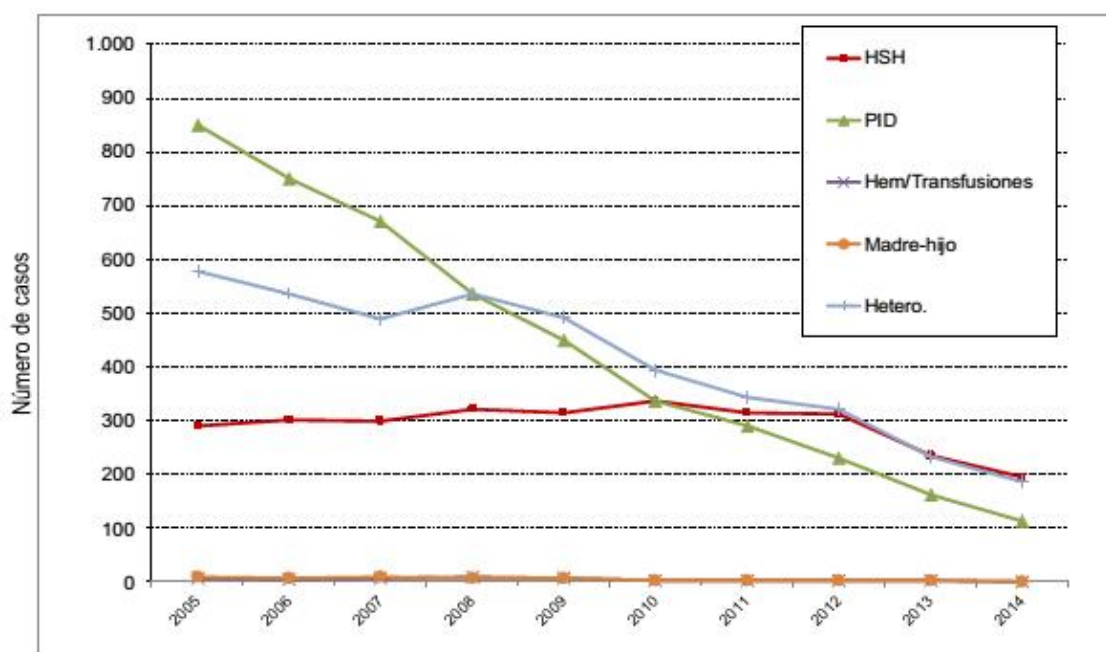


Fuente: Registro Nacional de SIDA. Actualización 30 de Junio 2015.⁵ Datos corregidos por retraso de notificación. Por razones técnicas no se han podido incluir los casos de Andalucía desde 2013 ni de la C. Valenciana desde el 2014.

A pesar de las estrategias de prevención, siguen produciéndose nuevas infecciones. En el año 2014 se registraron 3.366 nuevos diagnósticos de VIH en España. La tasa global de nuevos diagnósticos es similar a otros países de Europa, pero superior a la media de los países de Europa Occidental y de la Unión Europea. En España, la epidemia se ha

asociado de forma importante al consumo de drogas inyectables, sin embargo esta vía muestra desde hace años una tendencia claramente descendente, y actualmente la vía principal de contagio es la sexual. En el 2014 la vía de transmisión más frecuente fue la sexual en hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH) (53,9%), seguida de la heterosexual (26%) y la que se produce entre usuarios de drogas inyectadas (3,4%). La transmisión vertical constituye el 0,1%. El 32,1% de los nuevos diagnósticos fueron en personas extranjeras, sin embargo este porcentaje está descendiendo desde 2011.⁵

Figura 8. Casos de SIDA en España por vía de transmisión. Periodo 2005-2014.



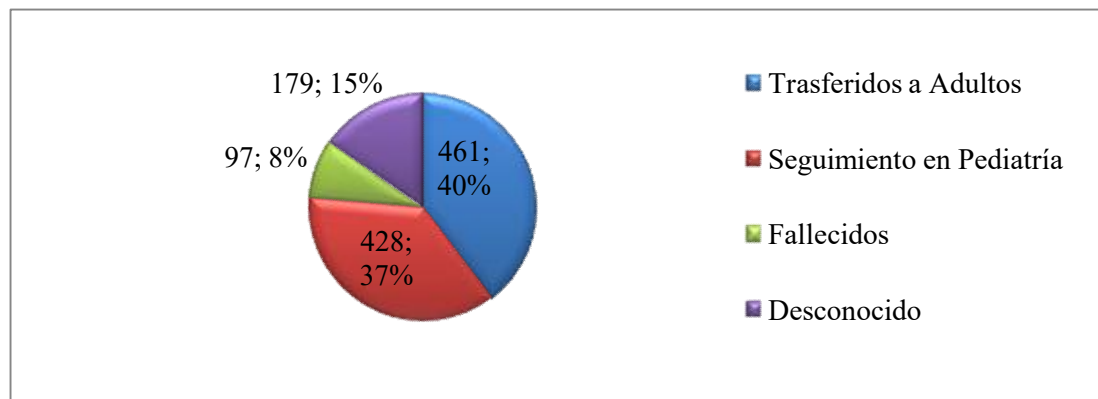
Fuente: Registro Nacional de SIDA. Actualización 30 de Junio de 2015.⁵ Datos corregidos por retraso en la notificación. Por razones técnicas no se han podido incluir los casos de Andalucía desde 2013 ni de la C. Valenciana desde el 2014. PID: Personas que se inyectan drogas

De los nuevos diagnósticos en 2014, 4 fueron niños menores de 15 años (0,2 %) y 37 adolescentes de 15-19 años (1,5%). La vía de transmisión fue vertical en 2 de ellos.⁵

Según los datos de la Cohorte Nacional Pediátrica CoRISpe (integrada por 75 hospitales de España y con datos desde 1995),⁶ hasta finales de diciembre del 2014 se han registrado 1.165 niños infectados por VIH, de los cuales 97 (8%) han fallecido, 461 (40%) se han traspasado a Unidades de Adultos y 428 están en la actualidad en seguimiento por Unidades Pediátricas. De estos pacientes en seguimiento en las

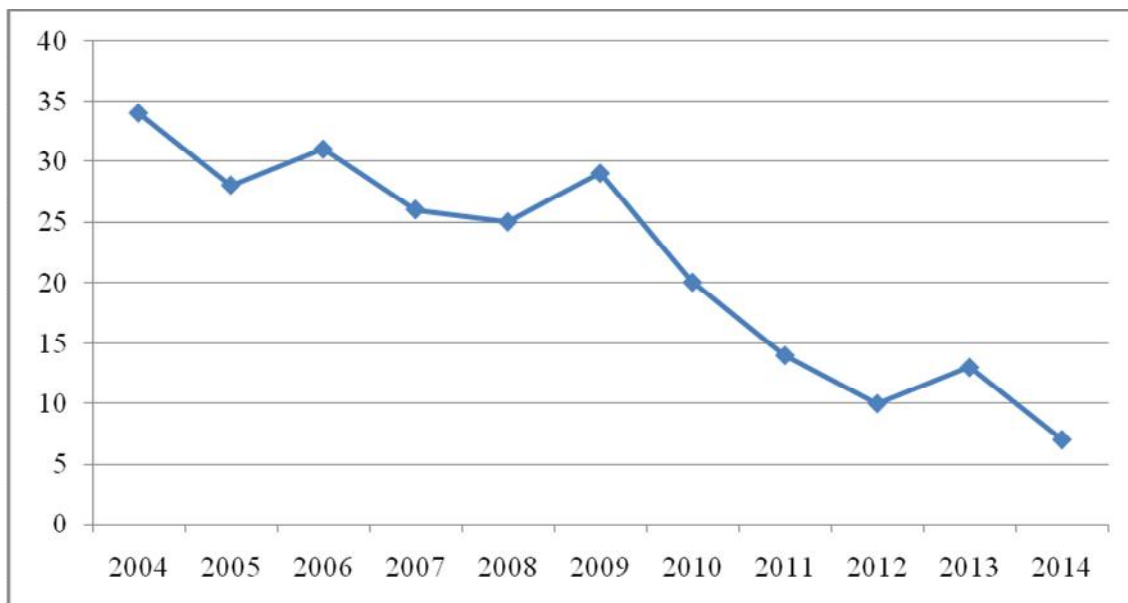
Unidades Pediátricas a diciembre del 2014, la vía de transmisión era vertical en 403 (94,2%), transfusional en 4 (0,9%), sexual en 5 (1,2%) y desconocida en 16 (3,7%). La mediana de edad era de 14,1 años (RIQ: 10,8-17,6), 53,5% eran mujeres y 96,3% recibían TAR en ese momento (solo 2,3% eran naive). Se registraron 7 nuevos diagnósticos en menores de 18 años en el año 2014 (3 por transmisión vertical).

Figura 9. Situación de los pacientes pediátricos con infección por VIH registrados en CoRISpe a diciembre del 2014.



Fuente: CoRISpe

Figura 10. Nuevos diagnósticos de infección por VIH pediátrica registrados en CoRISPE. Periodo 2004-2014



Fuente: CoRISpe

1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIH

El VIH pertenece a la familia de los retrovirus, al género lentivirus. Es un virus citopático, no oncogénico y existen dos subtipos: VIH tipo 1 (VIH-1), el más frecuente en nuestro medio, y el VIH tipo 2 (VIH-2), infrecuente en Europa, pero más común en África occidental.

La infección por VIH es fundamentalmente una infección del sistema inmune. La principal diana del virus son los linfocitos T CD4⁺, aunque también otros tipos celulares como linfocitos T CD8⁺, macrófagos/monocitos, células dendríticas, las células de Langerhans y las células de la microglía del cerebro.

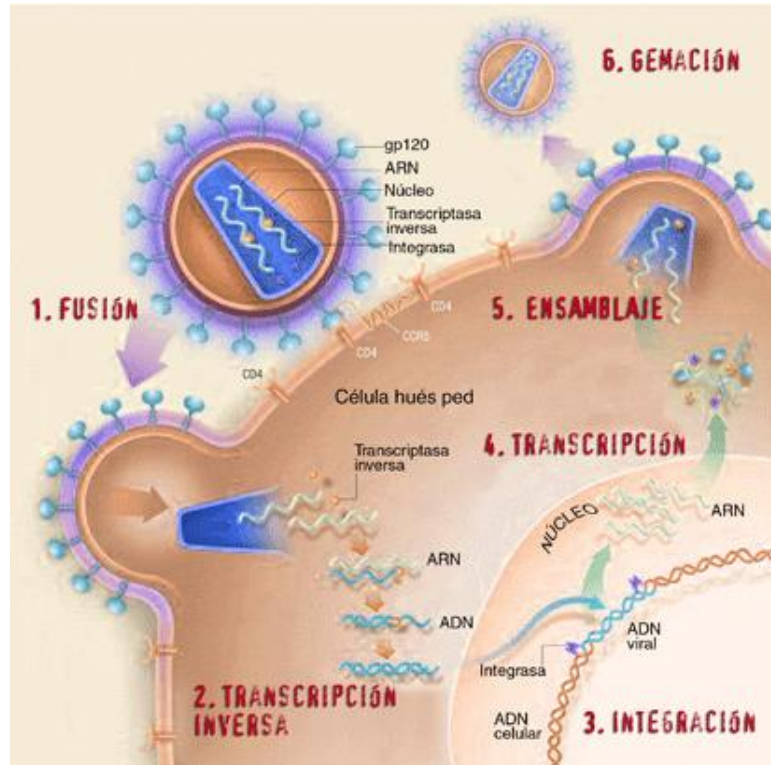
Al ser un retrovirus, su ciclo vital implica la integración en el genoma de la célula diana (**Figura 11**). El virus se une a la célula diana a través de la glicoproteína viral gp120 y el receptor celular CD4, que produce un cambio conformacional de la gp120 que permite una segunda unión a otras proteínas celulares que actúan como correceptores: CCR5 y CXCR4. La interacción con el correceptor produce a su vez cambios en la proteína viral gp41, que permite la fusión de las membranas con la liberación de la cápside viral en el citoplasma celular. Las proteínas de la cápside se desensamblan y liberan el ARN viral.

Posteriormente el ARN viral se transforma en ADN por medio de la transcriptasa reversa viral, entra en el núcleo de la célula y se integra en el genoma celular con ayuda de una integrasa, que procede del virión infectante. El ADN integrado se conoce como provirus y una vez integrado puede iniciar su transcripción o permanecer silente durante largos periodos de tiempo.

Para la transcripción utiliza la maquinaria celular. Se producen copias de ARN y se generan proteínas virales, que se ensamblan. Este nuevo virus “ensamblado” brota de la célula por gemación y ya puede infectar otras células. En cada célula infectada se ensamblan varios miles de nuevos viriones. Tras este proceso se produce en la célula diana un efecto citopático. Así, la infección persiste, por una constante repetición del ciclo infectivo y muerte celular con depleción progresiva del número de linfocitos T

CD4⁺, lo que conduce a una profunda inmunosupresión, que predispone al desarrollo de infecciones oportunistas y tumores.

Figura 11. Ciclo de replicación del virus VIH en la célula diana



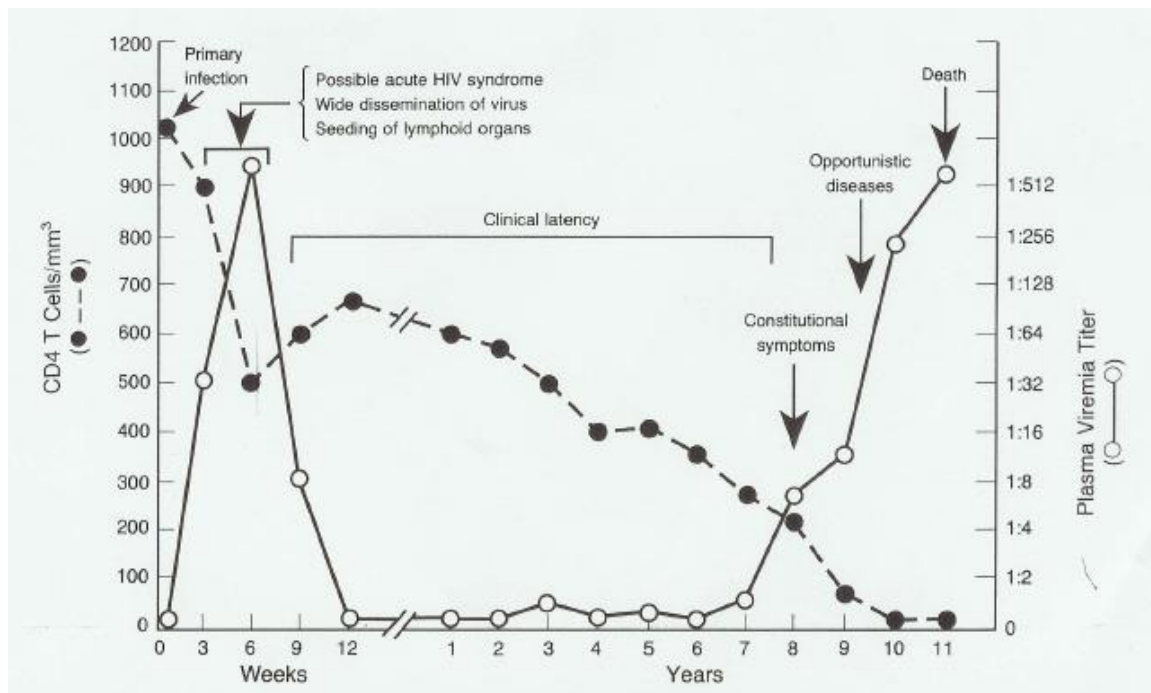
Fuente: <http://gtt-vih.org/>

En el curso de la infección existe 3 etapas (**Figura 12**):

- Fase aguda: infección de los linfocitos T CD4⁺ con destrucción masiva, alta replicación con altos niveles de viremia plasmática y diseminación del virus por el organismo con establecimiento de los reservorios virales (anatómicos y celulares).
- Fase de latencia clínica: descenso de la viremia, que se asocia a una emergencia de linfocitos T CD8⁺ citotóxicos que actúan contra el virus. Hay un equilibrio entre los mecanismo de replicación viral y aclaramiento viral, con una viremia estable pero con replicación viral constante.
- Fase de SIDA: los mecanismos homeostáticos son insuficientes y se produce un descenso de los linfocitos T CD4⁺, con aparición de infecciones oportunistas y morbilidad.⁷

La linfopenia de CD4⁺ se produce no solo por efecto citopático directo del virus, sino también por destrucción inmunomediada (por linfocitos T CD8⁺ citotóxicos), apoptosis inducida por proteínas virales, redistribución (acúmulo o secuestro en los órganos linfoides) y bloqueo en la regeneración de linfocitos T CD4⁺ por el timo y médula ósea.⁸

Figura 12. Curso de la infección por VIH en adultos.



Fuente: Pantaleo et al.⁷

En los niños infectados por vía perinatal, existen las tres etapas, pero la progresión a SIDA es más rápida, y la respuesta inmunológica y virológica es diferente a la de los adultos. La depleción de linfocitos T CD4⁺ es inicialmente menor debido a que existe un mayor número de linfocitos T totales por la edad.⁹ Sin embargo, la velocidad de descenso de linfocitos T CD4⁺ es mayor en niños pequeños (en el primer año de vida 250 cel/mm³/año y a los 6-8 años de edad 73 cel/mm³/año, en comparación con la observada en adultos infectados por VIH asintomáticos de 60 cel/mm³ por año¹⁰). El pico de carga viral (CV) durante la fase aguda es mayor en la infección por transmisión vertical, se mantienen CV altas durante un tiempo prolongado y descienden solo después de varios años.^{11, 12} Este control gradual de la replicación viral se ha asociado a la maduración y desarrollo del sistema inmune.¹³

1.3. INFECCIÓN PEDIÁTRICA POR VIH

1.3.1. Transmisión vertical

El VIH se transmite a través de vía sexual, vía parenteral y transmisión vertical, siendo ésta última la principal vía de transmisión en niños.

La transmisión madre-hijo puede ocurrir tanto en el embarazo, parto o lactancia; 17% de los casos de infección vertical ocurren antes del parto, 65% periparto y el 18% pueden acontecer durante la lactancia materna.¹⁴ La tasa de transmisión se estima entre 15 y 40% sin intervención,¹⁵ pero debido a las medidas preventivas se ha reducido el riesgo a 1% o menos en Estados Unidos y Europa.¹⁶⁻²⁴ Las estrategias preventivas incluyen: cribado universal a todas las embarazadas, TAR a la madre durante el embarazo y parto, y al recién nacido durante las 4-6 primeras semanas de vida, posibilidad de cesárea programada y contraindicación de la lactancia materna.^{25, 26}

1.3.2. Historia natural

Los niños tienen una historia natural de la enfermedad diferente a la del adulto. El ritmo de progresión de la enfermedad en niños infectados por VIH por transmisión vertical es más acelerado, incluso que otros niños infectados por otra vía.²⁷⁻²⁹

Los niños infectados por vía vertical presentan dos patrones de enfermedad en ausencia de tratamiento de la infección:³⁰⁻³³

- Rápidamente progresivo (20%): desarrollan inmunosupresión grave, SIDA o muerte en los primeros años de vida. Se asocia a infección intraútero³⁴ y enfermedad avanzada materna.^{35, 36} Presentan en los primeros meses de vida fallo de medro, diarrea crónica, candidiasis oral, hepatomegalia, linfadenopatía y encefalopatía. La neumonía por *Pneumocystis jirovecii* es la infección oportunista más frecuente.
- Lentamente progresivo (80%): síntomas al año de vida, con un ritmo de progresión a SIDA o muerte de aproximadamente 5% anual. La supervivencia media de 6-9 años. Se sugiere que ha adquirido la infección intraparto o postparto. Presentan infecciones recurrentes, retraso de crecimiento y

manifestaciones linfoproliferativas (hepatoesplenomegalia, parotiditis, linfadenopatías). Dentro de este grupo, existe una proporción de pacientes (2-16% según la definición) denominados "lentos progresores" que superados los 10 años se mantienen asintomáticos o con síntomas leves, con buena situación inmunológica.³⁷

El riesgo de progresión es mayor en el primer año de vida, siendo poco predictivo la CV y el recuento de linfocitos T CD4⁺. Pasado el año de vida, los linfocitos T CD4⁺ y la CV son factores independientes de progresión.³⁸⁻⁴¹ Otros factores pronósticos son el inicio precoz de la sintomatología,⁴² el momento de la infección,⁴³ infecciones oportunistas y encefalopatía.³⁰

Desde la introducción del TARGA, la infección por VIH tanto en adultos como en niños se ha convertido en una enfermedad crónica y ha disminuido drásticamente la morbimortalidad.⁴⁴⁻⁵⁰

1.3.3. Clasificación de la infección por VIH pediátrica

El sistema de clasificación pediátrica describe la evolución natural de la infección sin TAR.⁵¹ Hasta ahora se ha utilizado un sistema de clasificación de la infección por VIH en niños diferente de los adultos por las características especiales de la edad pediátrica. Existen dos sistemas de clasificación, el de la Organización Mundial de la Salud (OMS),⁵² que se ha usado más en países en desarrollo, y el de los Centros para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) establecido en el año 1994 para los menores de 13 años.⁵¹ Ambos sistemas se apoyan en dos pilares: la situación clínica y el estado inmunológico.

En la clasificación de los CDC 1994, la situación clínica de la infección se divide en cuatro categoría excluyentes: N (asintomáticos), A (sintomatología leve), B (sintomatología moderada) y C (sintomatología grave o criterios de SIDA a excepción de la neumonía intersticial linfoide que está en categoría B). (**Tabla 1/Anexo 1**).

Tabla 1. Clasificación de los CDC 1994 de la infección pediátrica por VIH. Categorías clínicas.

Categorías clínicas
<p><u>Categoría N: Asintomático</u></p> <p>Niños que no tienen ninguno síntoma considerado secundario a la infección por VIH o que tienen un solo síntoma de la categoría A.</p>
<p><u>Categoría A: Sintomatología leve</u></p> <p>Niños que tienen dos o más de los siguientes condiciones y ninguno de los considerados en categoría B o C:</p> <ul style="list-style-type: none"> • linfadenopatías ($\geq 0,5$ cm en más de dos localizaciones; bilateral = 1 localización) • hepatomegalia o esplenomegalia • parotiditis • dermatitis • infecciones recurrentes o persistentes del tracto respiratorio superior, sinusitis u otitis media.
<p><u>Categoría B: Sintomatología moderada</u></p> <p>Niños que presentan síntomas diferentes a los de las categorías A y C y que son atribuidos a la infección por VIH. Algunos ejemplos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anemia ($<8\text{g/dL}$), neutropenia ($<1.000/\text{mm}^3$) o trombopenia ($<100.000/\text{mm}^3$) de más de un mes de evolución. • Un episodio de infección bacteriana grave (sepsis, meningitis bacteriana, neumonía) • Candidiasis orofaríngea (muguet) persistiendo > 2 meses en niños mayores de 6 meses • Cardiomiopatía • Diarrea recurrente o crónica • Hepatitis • Estomatitis herpética recurrente (>2 episodios en un año) • Esofagitis, bronquitis o neumonitis por el virus del herpes simple antes del mes de edad • Herpes zóster de la menos 2 episodios o más de un dermatoma • Leiomiosarcoma • Neumonía intersticial linfoide • Nefropatía • Nocardiosis • Fiebre persistente de más de un mes • Varicela diseminada • Infección por citomegalovirus (CMV) o toxoplasmosis antes del mes de vida.
<p><u>Categoría C: Sintomatología grave - SIDA</u></p> <p>Niños con las siguientes condiciones definitorias de SIDA, a excepción de la neumonía intersticial linfoide (la cual se incluye en categoría B):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Infecciones bacterianas graves, múltiples o recurrentes • Candidiasis esofágica o del tracto respiratorio inferior • Encefalopatía • Coccidioidomicosis diseminada

- Criptococosis extrapulmonar
- Cryptosporidiasis o isosporiasis con diarrea persistente >1 mes
- Infección por CMV con edad mayor de un mes (que afecta a órganos diferentes que bazo, hígado o ganglios)
- Infección por virus herpes simple que causa úlcera mucocutánea de >1 mes de duración; o bronquitis, neumonitis o esofagitis por el virus del herpes simple en niños de más de un mes de edad
- Histoplasmosis diseminada
- Sarcoma de kaposi
- Linfoma
- Infecciones diseminadas por micobacterias atípicas
- Infección por *Mycobacterium tuberculosis* diseminada o extrapulmonar
- Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva
- Septicemia recurrente por Salmonella no typhi
- Toxoplasmosis cerebral
- Síndrome caquético en ausencia de una enfermedad aparte de la infección VIH que pudiera explicar los siguientes hallazgos: a) pérdida de peso persistente >10% de la línea basal; o b) pérdida de peso durante el seguimiento de al menos dos percentiles de las tablas en los niños de edad superior a 1 año; y c) peso por debajo del percentil 5 de las tablas de peso para talla, en dos controles consecutivos separados al menos 30 días; además de: a) diarrea crónica (dos o más deposiciones por día durante al menos 30 días); o b) fiebre documentada (durante un mínimo de 30 días, intermitente o constante).

Además, la clasificación pediátrica CDC 1994 establece tres categorías para la situación inmunológica según el recuento y porcentaje de linfocitos T CD4⁺ y la edad: 1 (no inmunodepresión), 2 (inmunodepresión moderada) y 3 (inmunodepresión grave) (**Tabla 2/Anexo 1**). En niños menores de 5 años, se utiliza preferentemente el porcentaje de CD4⁺, y a partir de esta edad se utiliza el recuento de CD4⁺.

Tabla 2. Clasificación de los CDC 1994 de la infección pediátrica por VIH . Categorías inmunológicas.

	Categorías inmunológicas					
	< 12 meses		1-5 años		6-12 años	
	Recuento	%	Recuento	%	Recuento	%
1.Inmunidad normal	≥ 1.500	≥ 25	≥ 1.000	≥ 25	≥ 500	≥ 25
2.Inmunosupresión moderada	750- 1.499	15- 24	500- 999	15- 24	200- 499	5- 24
3.Inmunosupresión grave	< 750	< 15	< 500	< 15	< 200	< 15

En el 2014 los CDC revisaron la clasificación y establecieron tres estadios (1, 2 y 3) para todos los grupos de edad, incluido niños menores de 13 años. La definición de estadios se basa en el recuento de linfocitos T CD4⁺, (**Tabla 3**) excepto que el paciente cumpla criterios de enfermedad oportunista (**Tabla 4**), que entonces se clasifica directamente en estadio 3 independiente de los linfocitos T CD4⁺. Solo en el caso de no disponer de recuento de CD4⁺, se utilizará el porcentaje de CD4⁺. Además incluye estadio 0 para la situación de infección aguda (menor de 6 meses), y estadio desconocido cuando no se dispone de los valores de CD4⁺.⁵³

Tabla 3. Clasificación de los CDC 2014 de la infección por VIH. Estadios de la infección por VIH basado en el recuento de linfocitos T CD4⁺ según la edad.

Estadio	Edad del recuento de linfocitos CD4 ⁺					
	< 1 año		1–5 años		≥ 6 años	
	cel./mm ³	%	cel./mm ³	%	cel./mm ³	%
1	≥ 1.500	≥ 34	≥ 1.000	≥ 30	≥ 500	≥ 26
2	750–1.499	26–33	500–999	22–29	200–499	14–25
3	< 750	<26	< 500	< 22	< 200	< 14

Tabla 4. Clasificación de los CDC 2014 de la infección por VIH. Enfermedades oportunistas definitorias de Estadio 3.

Enfermedades oportunistas definitorias de Estadio 3
<ul style="list-style-type: none"> • Infecciones bacterianas múltiples o recurrentes (solo niños < 6 años) • Neumonía recurrente* • Candidiasis esofágica o del tracto respiratorio inferior • Cáncer cervical invasivo* • Coccidioidomicosis diseminada o extrapulmonar • Cryptococcosis extrapulmonar • Cryptosporidiosis o Isosporiasis crónica intestinal (>1 mes de duración) • Infección por CMV con edad > 1mes (que afecta a órganos diferentes que bazo, hígado o ganglios) o retinitis por CMV (con pérdida de visión) • Encefalopatía atribuida a VIH • Infección por virus herpes simple: úlceras crónicas (>1 mes de duración) o bronquitis, neumonitis, o esofagitis (edad de inicio >1 mes) • Histoplasmosis diseminada o extrapulmonar • Sarcoma de Kaposi • Linfoma de Burkitt, inmunoblástico o primario cerebral • Infección por micobacterias atípicas diseminada o extrapulmonar • Infección por <i>Mycobacterium tuberculosis</i> de cualquier localización, pulmonar*, diseminada, o extrapulmonar • Neumonía por <i>Pneumocystis jirovecii</i> • Leucoencefalopatía progresiva multifocal • Septicemia recurrente por Salmonella • Toxoplasmosis cerebral con edad de inicio >1 mes • Síndrome caquético atribuido a VIH

*Solo en adultos, adolescentes y niños de ≥ 6 años de edad.

1.3.4. Diagnóstico de la infección

El diagnóstico de infección de VIH en niños menores de 18 meses infectados por transmisión vertical requiere métodos que detecten directamente el VIH, como la detección de ADN o ARN del VIH por PCR, debido a que existe paso transplacentario de anticuerpos maternos frente al VIH (IgG), que pueden persistir hasta los 18 meses de edad, y por ello las pruebas serológicas rutinarias no son válidas para el diagnóstico en este grupo de edad. La infección por VIH se diagnostica con dos pruebas virológicas de VIH positivas en muestras separadas a cualquier edad. Un resultado serológico positivo para VIH confirmado por Western Blot (o Inmunofluorescencia) a edad mayor de 18 meses confirmará la infección (excepto en el caso de seroreversores tardíos, que pueden tener anticuerpos maternos hasta los 24 meses de edad).⁵⁴

En niños sin exposición perinatal o niños mayores de 24 meses de edad con exposición perinatal, las pruebas serológicas pueden usarse para el diagnóstico.⁵⁴

1.3.5. Tratamiento antirretroviral

Los objetivos del TAR son la supresión completa y duradera de la replicación viral, restaurar o preservar la función inmune, prevenir y reducir la morbilidad asociada al VIH, prevenir la selección de mutaciones virales de resistencia, mejorar la calidad de vida y mantener un crecimiento y desarrollo neurocognitivo adecuado, todo esto con la mínima toxicidad. Además, otros objetivos son la reducción del riesgo de transmisión vertical en embarazadas y de transmisión sexual en adolescentes sexualmente activos con parejas discordantes.⁵⁴

Los fármacos antirretrovirales (ARV) se clasifican según su mecanismo de acción:

1. Inhibidores de la transcriptasa inversa:
 - a) análogos de nucleósidos (ITIAN):
 - abacavir (ABC), didanosina (ddI), emtricitabina (FTC), estavudina (d4T), lamivudina (3TC), zidovudina (ZDV), tenofovir (TDF)
 - b) no análogos de nucleósidos (ITINN):
 - efavirenz (EFV), nevirapina (NVP), etravirina (ETR), rilpivirina (RPV)
2. Inhibidores de la proteasa (IP):
 - lopinavir-ritonavir (LPV/r), ritonavir (RTV), atazanavir (ATZ), darunavir (DRV), fosamprenavir (FPV), tipranavir (TPV), indinavir (IDV), saquinavir (SQV), nelfinavir (NFV)
3. Inhibidores de la integrasa:
 - raltegravir (RAL), dolutegravir (DTG), elvitegravir (EVG)
4. Inhibidores del co-receptor CCR5:
 - maraviroc (MVC)
5. Inhibidores de la fusión:
 - enfurtivide (T-20)

Algunos de estos fármacos aún no están aprobados para niños (RPV, EVG, IDV, SQV, MVC) y otros tienen una restricción de edad (según las fichas técnicas en Europa: ≥ 3 meses: ABC; ≥ 4 meses: FTC; ≥ 2 años: TDF, NFV, TPV, RAL; ≥ 3 años: EFV, DRV; ≥ 6 años: ETR, ATV, FPV, T-20; ≥ 12 años: DTG), aunque frecuentemente se utilizan "off-label".⁵⁵

El TAR está basado en la actualidad en la combinación de al menos 3 fármacos ARV de 2 familias diferentes. El TAR consigue la supresión viral, pero no la erradicación de la infección debido a que el virus persiste en reservorios (linfocitos T CD4⁺ y otras células),⁵⁶⁻⁵⁸ por lo que de momento se debe administrar de por vida. Es esencial hacer una valoración individualizada del momento óptimo y de los ARV disponibles, teniendo en cuenta factores relacionados con la adherencia al tratamiento. Existen varias guías a nivel internacional sobre recomendaciones sobre cuándo empezar TAR y el régimen más adecuado (**Tablas 5 y 6**).^{54, 59-61}

Tabla 5. Recomendaciones de inicio de TAR según las diferentes sociedades: SEIP (Sociedad Española de Infectología Pediátrica), PENTA (Paediatric European Network for the Treatment of AIDS, Red Europea para el Tratamiento del SIDA), DHHS (Department of Health and Human Services of the United States, Departamento de Salud y Recursos Humanos de los Estados Unidos) y OMS (Organización Mundial de la Salud).

	SEIP 2015 ⁶¹	PENTA 2015 ⁵⁹	OMS 2015 ⁶⁰	DHHS 2016 ⁵⁴
< 1 año	Todos	Todos	Todos	Todos
1-3 años	<ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 1000 cel./μL ó ≤ 25% - Categoría CDC B ó C 	<ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 1.000 cel./μL ó ≤ 25% - Estadio OMS 3 ó 4 - Categoría CDC B ó C <p><i>Considerar:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Todos, especialmente si CV >100.000 copias/ml 	<p>Todos</p> <p><i>Priorizar:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - ≤ 2 años - Estadio OMS 3 ó 4 - CD4 ≤ 750 cel./μL ó <25% en niños < 5 años - CD4 ≤ 350 cel./μL en niños ≥ 5 años y adolescentes 10-19 años de edad 	<p>Todos</p> <p><i>Urgente:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Estadio 3 CDC 2014 definido por enfermedad oportunista - CD4 <500 cel./μL en niños ≥ 1 año y < 6 años; ó CD4 < 200 cel./μL en ≥ 6 años <p><i>Tratar(no urgente):</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Síntomas moderados - CD4 500-999 cel./μL en niños ≥ 1 año y < 6 años; ó CD4 200-499 cel./μL en ≥ 6 años <p><i>Recomendación moderada</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Síntomas leves o asintomático + CD4 ≥ 1.000 cel./μL en niños 1-6 años; ó CD4 ≥ 500 cel./μL en niños ≥ 6 años
3-5 años	<ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 750 cel./μL ó ≤ 25% - Categoría CDC B ó C 	<ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 750 cel./μL ó ≤ 25% - Estadio OMS 3 ó 4 - Categoría CDC B ó C <p><i>Considerar:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - CV > 100.000 copias/ml 		
> 5 años	<ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 500 cel./μL - Categoría CDC B ó C 	<ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 350 cel./μL - Estadio OMS 3 ó 4 - Categoría CDC B ó C <p><i>Considerar:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - CD4 ≤ 500 cel./μL - CV >100.000 copias/mL 		

Tabla adaptada y actualizada de: Bamford A et al. 2015.⁵⁹

En España, acorde a las últimas guías publicadas, se recomienda iniciar TAR en todos los menores de 1 año, independiente de la situación clínica, linfocitos T CD4⁺ o CV. A partir del año de vida, la recomendación se basa en criterios clínicos (categoría de los CDC 1994 B ó C) o inmunológicos (1-3 años: CD4⁺ ≤ 25% ó ≤ 1.000 cel./mm³, 3-5

años: $CD4^+ \leq 25\%$ ó $\leq 750 \text{ cel./mm}^3$, y > 5 años: $CD4^+ \leq 500 \text{ cel./mm}^3$). Otra indicación de inicio de TAR es en mujeres embarazadas para evitar la transmisión vertical, en tuberculosis y en la coinfección por virus de la hepatitis C (VHC). En niños mayores de 1 año se valorará iniciar TAR si la CV es mayor de 100.000 copias/mL, ya que el riesgo de progresión y deterioro inmunológico es mayor. También se valorará el inicio de TAR si coinfección por virus de la hepatitis B (VHB), joven sexualmente activo, recuento de $CD4^+$ mayor pero próximo a 500 cel./mm^3 en mayores de 5 años, manifestaciones autoinmunes, tumores, retraso del crecimiento o del desarrollo puberal, deterioro neurocognitivo o infección primaria tras contacto sexual.⁶¹

Tabla 6. Pautas de elección para la terapia antirretroviral de inicio según las diferentes sociedades: SEIP, PENTA, DHHS y OMS.

	SEIP 2015 ⁶¹	PENTA 2015 ⁵⁹	OMS 2015 ⁶⁰	DHHS 2016 ⁵⁴
14 días de vida- 3 años	2 ITIAN + LPV/r	2-3 ITIAN+ LPV/r 3 ITIAN+ NVP	2 ITIAN + LPV/r	2 ITIAN + LPV/r 2-3 años: 2 ITIAN + LPV/r o RAL
≥ 3 años	2 ITIAN + LPV/r 2 ITIAN+ EFV	2 ITIAN + LPV/r 2 ITIAN+ EFV	2 ITIAN + EFV	2 ITIAN + ATV/r 2 ITIAN+ DRV/r 2 ITIAN+ EFV 2 ITIAN + LPV/r
≥ 6 años	2 ITIAN + ATV/r 2 ITIAN + EFV	2 ITIAN + ATZ/r 2 ITIAN+ EFV		2 ITIAN + RAL
Adolescente (≥ 12 años^a)	2 ITIAN + ATZ/r 2 ITIAN + DRV/r 2 ITIAN + EFV	2 ITIAN + ATZ/r 2 ITIAN + DRV/r 2 ITIAN + EFV		2 ITIAN + ATV/r 2 ITIAN + DTG 2 ITIAN + DRV/r 2 ITIAN + EVG/c Si maduro sexualmente tratar como adulto ^d
ITIAN de elección	≤12 años: 3TC (o FTC) +ABC > 12 años: TDF + FTC o ABC + 3TC.	3TC + ABC 3TC + ABC +ZDV ^b (TDF + FTC) ^c	< 3 años: ABC (o ZDV) + 3TC ≥ 3 años: ABC + 3TC ≥ 10 años: TDF + 3TC (o FTC)	<3meses: ZDV + 3TC (o FTC) ≥ 3 meses : ABC (o ZDV) + 3TC (o FTC) ≥12 años ^d :ABC (o TAF) + 3TC (o FTC)

a) En las guías de la OMS se considera adolescentes si ≥ 10 años y ≥ 35 kg

b) Asociar ZDV en niños < 3 años de edad si NVP o CV alta o afectación del sistema nervioso central

c) Solo en adolescentes con estadio puberal de Tanner 4 o 5.

d) Si adolescente ≥ 12 años y maduro sexualmente tratar como adulto

TAF: Tenofovir alafenamida

Hay que considerar la modificación del TAR en caso de fracaso virológico o inmunológico, progresión clínica, toxicidad o intolerancia a fármacos, simplificación, interacciones o mejoría de la potencia, seguridad y tolerabilidad.^{54, 59, 61}

Desde la introducción del TAR, se ha observado una mejora espectacular de la situación clínica e inmunológica de los pacientes, así como de su calidad de vida, sin embargo existe una morbilidad debido a los efectos adversos, que constituye su principal limitación.

Los efectos adversos más frecuentes^{54, 59} son:

- Toxicidad mitocondrial: ocurre con ITIAN, sobre todo con d4T y ddI:
 - acidosis láctica/esteatosis hepática
 - hiperlactatemia (sintomática cuando lactato > 5 mmol/L ó asintomática y crónica cuando lactato 2-5 mmol/L)
- Toxicidad hepática:
 - elevación de transaminasas: todos los ARV, principalmente NVP y TPV
 - elevación de bilirrubina indirecta: IDV, ATV
 - hipertensión portal no cirrótica: d4T y ddI
- Toxicidad gastrointestinal:
 - náuseas, vómitos: todos los ARV, pero principalmente con IP y ZDV.
 - diarrea: con cualquier ARV, pero principalmente con IP (particularmente NFV, LPV/r, FPV/r) y ddI. Aparece precozmente y mejora con el tiempo (8-8 semanas).
 - pancreatitis: principalmente con ddI, d4T, IP/r
- Toxicidad hematológica:
 - anemia: principalmente ZDV
 - macrocitos: principalmente ZDV, también d4T
 - neutropenia: principalmente ZDV y NVP
- Toxicidad neurológica:
 - depresión del sistema nervioso central: LPV/r
 - síntomas neuropsiquiátricos y otros: EFV, RAL, RPV y DTG.
 - hemorragia intracraneal: TPV
 - ataxia cerebelosa: RAL

- neuropatía periférica: d4T, ddI, IP
- neuropatía óptica: ddI
- Toxicidad cutánea:
 - rash: cualquier ARV
 - reacción local: enfurtivide (administración intramuscular)
 - síndrome de hipersensibilidad: ABC, T-20, NVP, ETR, MVC, DTG
 - síndrome de Stevens-Johnson, eritema multiforme, necrólisis tóxica epidérmica: cualquier ARV, especialmente ITINN.
- Toxicidad renal:
 - litiasis: IDV, ATV
 - disfunción renal: TDF
 - elevación de creatinina sérica: DTG, RPV
- Toxicidad metabólica:
 - dislipemia: IP (sobre todo si están potenciados con RTV, menos incidencia con DRV/r y con ATV), ITIAN (sobre todo d4T), ITINN (EFV más que NVP, RPV y ETR)
 - resistencia a insulina, hiperglucemia, diabetes: varios ITIAN (d4T, ddI, ZDV), varios IP (LPV/r, menos frecuente con ATV, DRV/r, TPV/r, NFV).
 - lipodistrofia: lipoatrofia (ITIAN) y/o lipohipertrofia (IP y EFV).
- Toxicidad ósea: este tema se desarrollará en el siguiente apartado.

1.4. ALTERACIONES DEL METABOLISMO ÓSEO EN VIH

En la actualidad, la morbimortalidad en la población adulta con infección por VIH no está relacionada tanto con las infecciones oportunistas y eventos SIDA, sino más frecuentemente con las complicaciones a largo plazo de la infección crónica por VIH y del TAR, como alteraciones neurocognitivas, enfermedad cardiovascular, hepática, renal o metabólica, incluida la enfermedad ósea.^{62, 63}

El TAR también ha reducido drásticamente la morbimortalidad de los niños infectados por VIH por transmisión vertical,^{44-50, 64, 65} muchos de los cuales en la actualidad son adolescentes o jóvenes adultos, que se enfrentan a las potenciales efectos a largo plazo de la infección y del TAR, con la especial característica que llevan una exposición acumulada desde el nacimiento y durante todo el crecimiento y desarrollo, cuyo impacto a largo plazo se desconoce.

En los pacientes con infección por VIH se ha descrito osteonecrosis, osteomalacia, disminución de la densidad mineral ósea (DMO) y osteoporosis.

1.4.1. Osteonecrosis

Es la necrosis de la epífisis de huesos largos, que provoca dolor óseo e impotencia funcional. La localización más frecuente en niños es la cabeza femoral (enfermedad de Legg-Calves-Perthes-like).

Se ha descrito una mayor incidencia de osteonecrosis en población adulta infectada por VIH respecto a la población general.^{66, 67} Este aumento de incidencia también se ha observado en la infección perinatal, donde niños con infección por VIH tienen 9 veces mayor riesgo de osteonecrosis que niños no infectados.⁶⁸ La osteonecrosis se ha asociado en adultos a factores de riesgo comunes a la población general (alcohol,^{69, 70} corticoides,⁷¹⁻⁷³ dislipemia,⁷² pancreatitis, hipercoagulabilidad⁷⁴), al TAR^{66, 75} y a la misma infección por VIH.⁶⁶ En niños se ha asociado a hiperlipemia.⁷⁶

La prueba inicial es la radiografía simple. La resonancia magnética y la gammagrafía pueden detectar alteraciones cuando la radiografía es normal. El tratamiento es traumatológico y no difiere de la población no infectada.⁷⁷

1.4.2. Osteomalacia

Se define como mineralización ósea insuficiente, con el consecuente mayor riesgo de fracturas y dolor óseo, y en los niños además puede producir deformidades (raquitismo). La falta de mineralización conduce, además, a DMO baja, agravando la osteoporosis, aunque la osteomalacia constituye una entidad diferente a la de osteoporosis. Está causada generalmente por déficit de vitamina D.^{78, 79} Se ha descrito una elevada prevalencia de deficiencia de vitamina D en cohortes con infección por VIH, sin embargo no hay estudios publicados que evalúen la osteomalacia y vitamina D en el contexto de la infección por VIH,⁷⁹ excepto la comunicación de dos casos, uno asociado a rifabutina en combinación con TAR⁸⁰ y otro asociado a EFV.⁸¹

También se puede producir osteomalacia por alteración del fosfato. En este sentido, se han descrito casos de osteomalacia hipofosfatémica asociada a tubulopatía renal por TDF en adultos infectados por VIH,⁸² e incluso en un adolescente infectado por VIH por transmisión vertical.⁸³

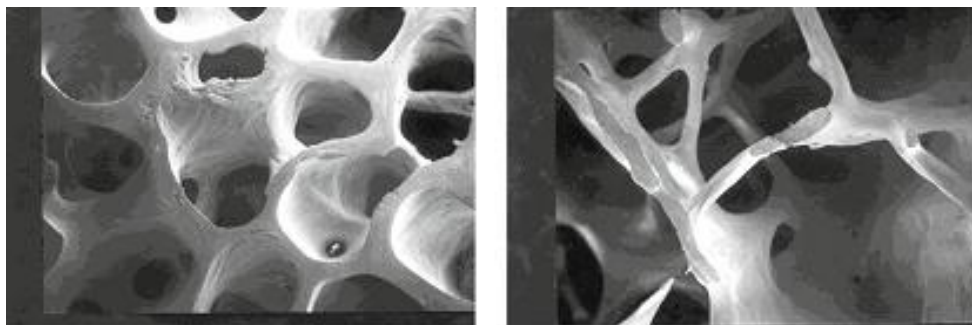
1.4.3. Disminución de la densidad mineral ósea y osteoporosis

Es la patología ósea más frecuente en los pacientes con infección por VIH. La osteoporosis es uno de los problemas de salud más importantes en todo el mundo con alta morbilidad, e incluso mortalidad en edades avanzadas, y elevados costes económicos.⁸⁴⁻⁸⁶

1.4.3.1. Definición y diagnóstico

Osteoporosis se define como una enfermedad esquelética, caracterizada por una disminución de la resistencia ósea que predispone a una persona a un mayor riesgo de fractura. La resistencia ósea refleja la integración de la densidad y la calidad del hueso. La DMO es la cantidad de sales minerales por unidad de volumen del hueso y está determinada por el pico máximo de masa ósea y la magnitud de la pérdida de masa ósea. La masa ósea es la cantidad de tejido óseo del organismo. La calidad ósea depende de la arquitectura, el remodelado óseo, el daño acumulado y la mineralización.⁸⁷

Figura 13. Microarquitectura de hueso. La figura de la izquierda muestra un hueso normal y la figura de la derecha un hueso osteoporótico.



Fuente: Demster et al.⁸⁸

La disminución de la DMO y las alteraciones de la calidad del hueso conducen a una menor resistencia ósea (mayor fragilidad), por lo que ante un traumatismo de bajo impacto, se produce fractura.

Existen dos tipos de osteoporosis: osteoporosis primaria (en relación con procesos fisiológicos como la menopausia y el envejecimiento, y asociada a enfermedades como osteogénesis imperfecta y osteoporosis juvenil idiopática) y osteoporosis secundaria.^{89,}

90

En la actualidad no se puede medir toda la resistencia ósea, por lo que se utiliza la DMO como medida aproximada, ya que representa el 70% de la resistencia ósea.⁸⁷ La densitometría o absorciometría de rayos X de doble energía (dual energy X-ray absorciometry, DXA) es el método de elección para la estimación de la DMO.^{87, 91-93} De forma general se realiza a nivel de la columna lumbar y tercio proximal del fémur, siendo de elección en niños y adolescentes la columna lumbar y el cuerpo entero. Hay que tener en cuenta que la cadera no es un sitio fiable para la medición en niños en crecimiento por la variabilidad del desarrollo esquelético.⁹¹ La DMO medida por DXA indica la cantidad de mineral de un área o superficie ósea escaneada y se expresa en g/cm². Los resultados de las mediciones de DMO se estandarizan en T-score (número de desviaciones estándar (DE) respecto al valor medio de DMO de la población adulta sana joven) y Z-score (número de DE respecto al valor medio de DMO de la población de la misma edad, sexo y raza).

La DXA ha demostrado capacidad para predecir el riesgo de fracturas por fragilidad en población adulta (riesgo relativo de fractura de 1,5 por cada disminución de DMO de 1 DE).^{94, 95} En niños la evidencia es más limitada,⁹⁶ por lo que no se puede establecer el criterio de osteoporosis basándose solo en la DXA.^{97, 98}

La OMS ha establecido unos criterios densitométricos para el diagnóstico de osteoporosis cuando el T-score es $\leq -2,5$ (ver **Tabla 7**).^{86, 99, 100}

Tabla 7. Criterios densitométricos de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

	T-score de DMO
Normal	≥ -1 DE
Osteopenia o masa ósea baja	< -1 y $> -2,49$ DE
Osteoporosis	$\leq -2,5$ DE
Osteoporosis grave o establecida	$\leq -2,5$ DE + fractura por fragilidad

Según la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica ("International Society for Clinical Densitometry", ISCD), los criterios de la OMS solo se pueden aplicar a mujeres posmenopáusicas (o en la transición) y a hombres ≥ 50 años, considerando osteoporosis

si T-score de DMO $\leq -2,5$ DE. En hombres menores de 50 años y mujeres premenopáusicas es preferible utilizar el Z-score, considerándose DMO "por debajo del rango esperado para la edad" si Z-score ≤ -2 y "en rango esperado para la edad" si Z-score > -2 DE. En este grupo no se puede diagnosticar osteoporosis solo basándose en la DMO.¹⁰¹

En la población pediátrica < 20 años de edad, los criterios de osteoporosis y osteopenia de la OMS no se deben aplicar. Se debe utilizar siempre el Z-score y se considera "densidad mineral ósea baja" cuando el Z-score de DMO es ≤ -2 DE. De acuerdo con ISCD, osteoporosis en la edad pediátrica se define cuando hay fractura-compresión vertebral en ausencia de enfermedad local o traumatismo de alta energía. En ausencia de dichas fracturas, el diagnóstico de osteoporosis en esta población se debe basar en la presencia de historia clínicamente significativa de fracturas (2 o más fracturas de hueso largo a la edad de 10 años o 3 o más fracturas de hueso largo a cualquier edad hasta los 19 años) asociado a Z-score de DMO ≤ -2 DE.⁹¹

La DXA es la técnica de elección en pediatría por su rapidez, precisión, seguridad (mínima dosis de radiación), bajo coste, disponibilidad, y existencia de referencias pediátricas.^{102, 103} Sin embargo, su interpretación es complicada debido a que está influenciada por el efecto de múltiples factores como la edad, etnia, sexo, estadio puberal, desarrollo del esqueleto, peso y talla, tamaño del hueso y composición corporal.¹⁰⁴ La medición de la DMO por DXA es bidimensional, es decir mide la densidad del área (g/cm^2) y no la densidad volumétrica (g/cm^3), ya que no tiene en cuenta la profundidad, por lo que es dependiente del tamaño del hueso. Por lo tanto, la DMO medida por DXA puede sobreestimar la verdadera DMO en caso de huesos largos e infraestimarla en caso de hueso corto o estatura pequeña.^{103, 105} Por esta limitación de la DXA, los Z-scores de DMO en niños se deben ajustar por la talla, sobre todo en niños con retraso del crecimiento y baja estatura y especialmente utilizando el método de ajuste por Z-score de talla o el método de densidad mineral ósea aparente ("Bone Mineral Apparent Density", BMAD).⁹¹

Otras técnicas son la tomografía axial computarizada cuantitativa (TCC) y la ultrasonografía cuantitativa. La TCC realiza medición volumétrica de la densidad, aporta información sobre la geometría del hueso y mide los compartimentos de hueso

trabecular y cortical, sin embargo no se recomienda para uso clínico por la radiación, la falta de valores de referencia en pediatría y de estandarización de la técnica.¹⁰⁶ La TCC periférica irradia menos, pero no está disponible para uso clínico en la mayoría de los centros. La ultrasonografía cuantitativa (QUS) no irradia, es portátil, barata e informa además de la densidad sobre la estructura del hueso,¹⁰⁷ pero es difícil de interpretar por la falta de datos de referencia pediátricos¹⁰⁸ y actualmente no hay evidencia suficiente para su recomendación en pediatría.¹⁰⁹

1.4.3.2. Desarrollo normal del hueso

Para entender el impacto de la infección VIH y el TAR en el hueso en el contexto de la infección VIH perinatal, que afecta a niños y jóvenes en crecimiento, es preciso conocer el proceso normal de crecimiento y desarrollo del hueso.

El hueso es un tejido conjuntivo compuesto por una matriz orgánica, células y minerales. La matriz extracelular se mineraliza con el depósito de calcio y fósforo, lo que le confiere fortaleza a la estructura. Las células óseas son los osteocitos (células maduras localizadas en el interior de la matriz ósea, intervienen en la regulación del intercambio de minerales y en la integración y respuesta a estímulos, siendo capaces de activar osteoclastos u osteoblastos en respuesta a estímulos antagónicos en función de la carga local), los osteoblastos (responsables de la síntesis de la matriz y regulan la actividad de los osteoclastos) y los osteoclastos (responsables de la resorción ósea).¹¹⁰

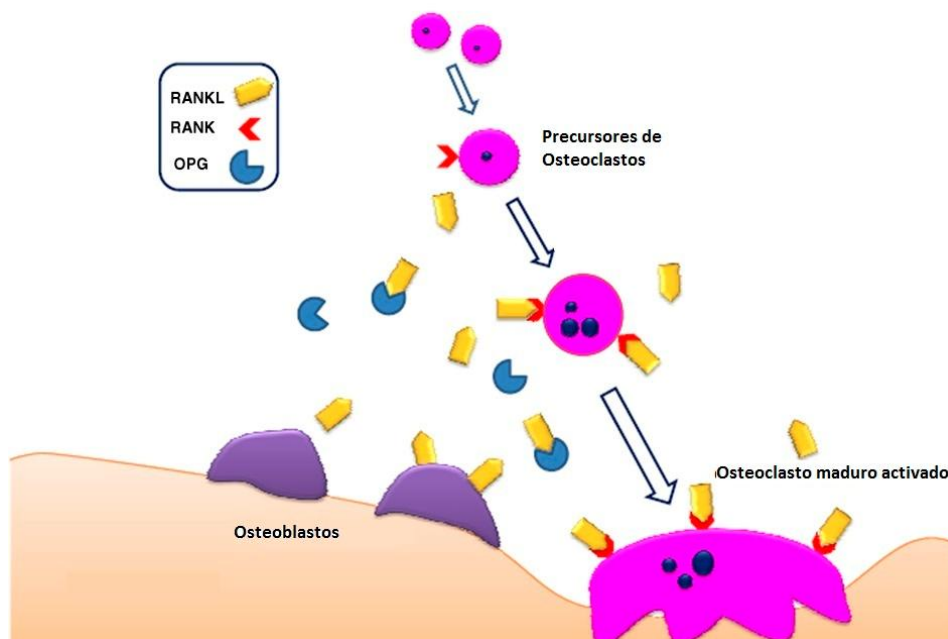
El hueso es una estructura dinámica, en continuo proceso de neoformación y resorción, donde intervienen los osteoblastos y osteoclastos, citoquinas y factores locales (osteoprotegerina, RANKL, IL-6, IL-1, TNF- α) y hormonas (PTH, vitamina D, calcitonina, IGF-1, hormonas tiroideas, glucocorticoides). (**Tabla 8**) La masa ósea total depende del equilibrio entre formación y resorción. Durante la infancia y adolescencia, predomina la formación, acumulándose masa ósea.^{111,112}

Tabla 8. Efecto de las varias citoquinas sobre los osteoblastos y osteoclastos.

	Osteoblastos	Osteoclastos
Estimulación	TGF- β	IL-6 IL-1 IL-17 M-CSF RANKL TNF- α
Inhibición	IL-6 IL-1 TNF- α	IFN- γ IL-3 IL-4 IL-10 IL-12 OPG

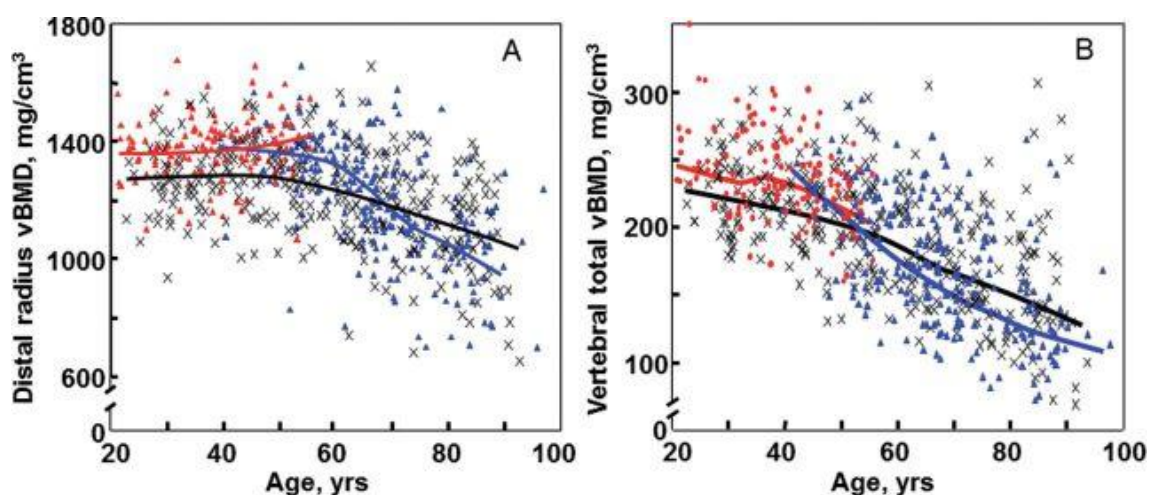
Modificado de: Pietschmann et al.¹¹³

El ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL) y la osteoprotegerina (OPG) juegan un papel importante en el remodelado óseo. (**Figura 14**) El RANKL se expresa en los osteoblastos y sus precursores. La unión del RANKL a su receptor natural, RANK, en la superficie celular de osteoclastos y sus precursores, estimula la diferenciación y activación de los osteoclastos. La OPG se sintetiza por los osteoblastos y células estromales; actúa como receptor señuelo que se une al RANKL impidiendo su acción osteorresortiva.¹¹⁴

Figura 14. Sistema osteoprotegerina-RANK-RANKL en el remodelado óseo.Adaptado de: Dufresne et al.¹¹⁵

El proceso de crecimiento y mineralización del esqueleto óseo (aumento de tamaño de los huesos y aposición de nutrientes) se inicia ya durante el desarrollo fetal y continúa durante la infancia y adolescencia hasta el final de la segunda década o la tercera década de vida, cuando se alcanza el pico máximo de masa ósea (PMO).^{116, 117} A partir de entonces sigue un periodo donde la masa ósea se mantiene relativamente estable y empieza a disminuir progresivamente debido a un aumento del remodelado óseo con mayor reabsorción que formación (**Figura 15**).^{118, 119}

Figura 15. Cambios en la densidad mineral ósea a lo largo de la vida. En la figura A se muestra la evolución de la DMO volumétrica medida por TCC a nivel del radio distal y en la figura B la DMO volumétrica medida por TCC a nivel vertebral.



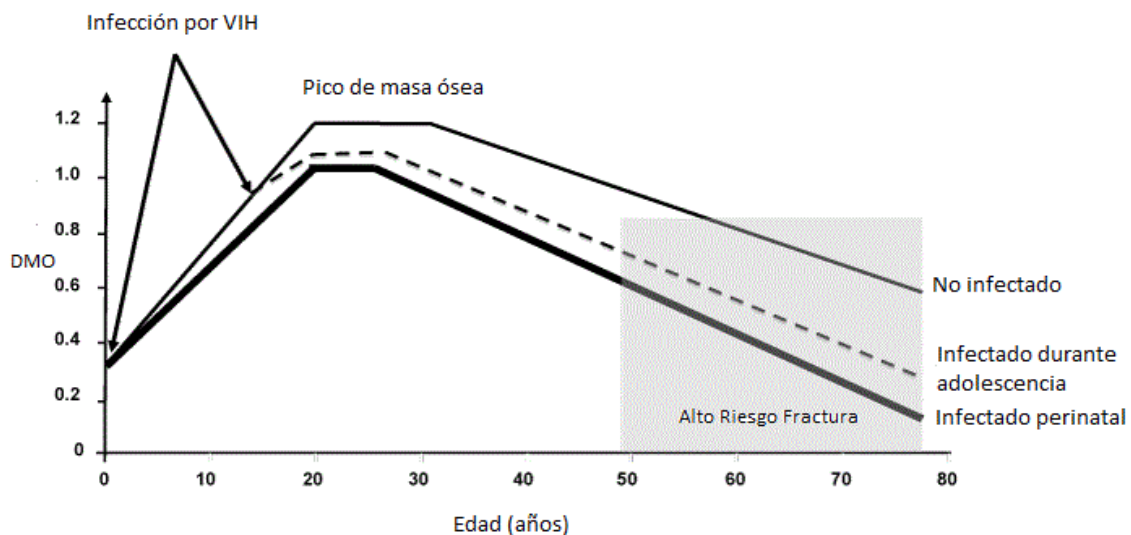
Fuente: Riggs et al. 2004.¹¹⁸

La infancia y la adolescencia son por lo tanto periodos cruciales para la adquisición de la masa ósea, acumulándose la mayoría de la masa ósea al final de la adolescencia.¹²⁰ Existe evidencia de que DMO baja identificada en la infancia predice DMO baja en el adulto joven.¹²¹ Si no se alcanza un PMO óptimo, existe un mayor riesgo de osteoporosis en la vida adulta.¹²² De hecho, el 60% del riesgo de osteoporosis en la edad adulta se explica por el PMO.¹²³

El PMO está determinado por factores genéticos (hasta 60-80%),¹²⁴ hormonales (hormona de crecimiento, hormonas tiroideas, esteroides gonadales, calcitriol, factores de crecimiento), nutricionales (calcio, fósforo y magnesio, pero también aporte energético y proteico adecuado), ambientales (tabaco, alcohol), y mecánicos (actividad

física y peso corporal, ya que la carga mecánica favorece la formación ósea).^{111, 125, 126} La exposición a enfermedades o fármacos o cualquier factor que altere este proceso de desarrollo óseo durante la infancia o adolescencia, puede comprometer el PMO, cuyas consecuencias pueden no manifestarse hasta décadas posteriores con riesgo de fracturas y osteoporosis. (**Figura 16**) En niños, la DMO baja es normalmente asintomática, pero niños con afectación grave, pueden tener fracturas ya incluso en la infancia, con consecuencias en la calidad de vida con dolor e incluso deformidades e incapacidad funcional. De hecho, se ha considerado la osteoporosis como enfermedad pediátrica con consecuencias geriátricas.¹²⁷

Figura 16. Hipotética evolución de la densidad mineral ósea en la infección VIH adquirida perinatalmente o en etapas tempranas de la vida.



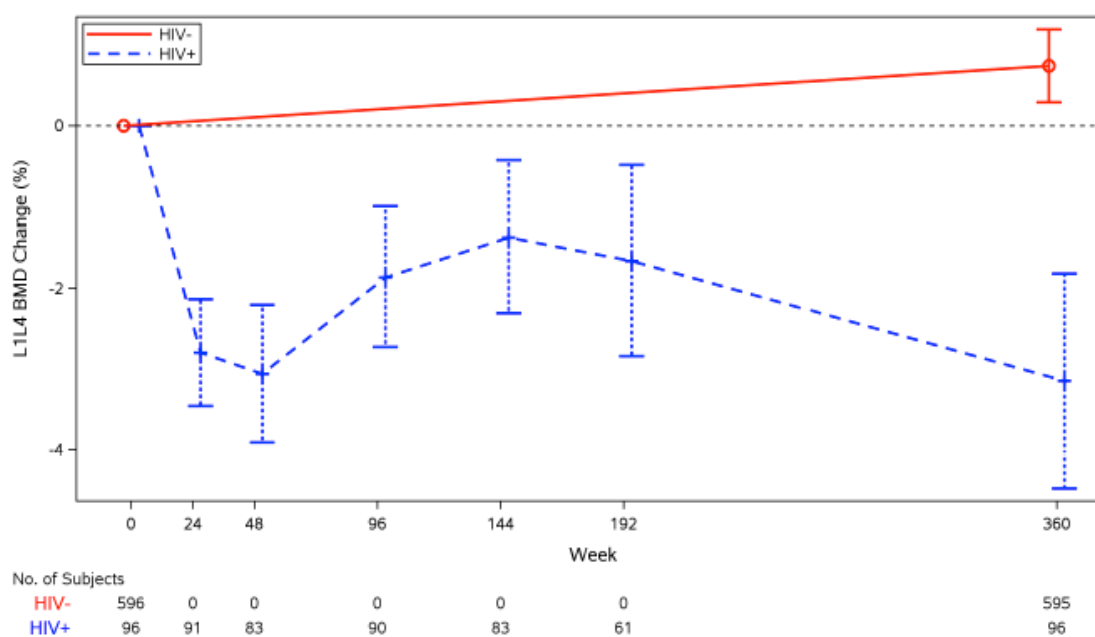
Adaptado de: Arpadí et al 2014.¹²⁸

Es posible medir en la sangre u orina marcadores del metabolismo óseo. Estos marcadores son moléculas sintetizadas por osteoblastos y osteoclastos o procedentes de la reabsorción ósea. Los marcadores de formación ósea incluyen la osteocalcina sérica, la fosfatasa alcalina sérica (total y más específica la fosfatasa alcalina ósea) y los propéptidos carboxiterminal y aminoterminal del procolágeno tipo I en sangre. Los marcadores de resorción ósea son las piridolinas en orina, los telopéptidos carboxi y aminoterminal del colágeno tipo I y la fosfatasa ácida tartratorresistente 5b. En pediatría, la interpretación es difícil por la variabilidad y la influencia del crecimiento y la ausencia de valores normales para la edad.^{111, 129}

1.4.3.3. Prevalencia en población con infección por VIH

Se ha descrito mayor prevalencia de DMO baja en adultos con infección por VIH respecto a población no infectada,¹³⁰ así como un mayor riesgo de fractura.^{131, 132} Un metaanálisis realizado en el 2006 demostró una prevalencia de 15% de osteoporosis y 67% de DMO disminuida en adultos con infección por VIH.¹³⁰ Recientemente un estudio (ACTG A5318) longitudinal en 97 adultos infectados por VIH durante una mediana de 7,5 años en TAR observó mayor velocidad de disminución de la DMO a nivel lumbar ajustado por edad, sexo, raza e índice de masa corporal (IMC) comparado con individuos no infectados.¹³³ (Figura 17)

Figura 17. Cambios en la densidad mineral ósea a nivel de la columna lumbar según seroestatus en el estudio ACTG A5318 en 97 adultos infectados por VIH y 630 adultos controles.



Fuente: Grant et al.¹³³

En población pediátrica, en la mayoría de los estudios se ha observado menor DMO o contenido mineral óseo (CMO) en niños y adolescentes con infección perinatal respecto a controles sanos.^{128, 134-143} Sin embargo, otros estudios no han mostrado diferencias.¹⁴⁴⁻¹⁴⁶ La prevalencia de DMO baja en infección perinatal varía desde 4% hasta 32% en cohortes en Brasil, Holanda, Tailandia y Estados Unidos.^{139, 144, 147-149}

Los estudios longitudinales en niños y adolescentes con infección por VIH son escasos. Un estudio longitudinal en 32 niños mostró menor aumento de DMO corporal total al año que en comparación con niños sanos¹³⁸ y en otro estudio de 18 pacientes solo en el 44% de los pacientes el Z-score de DMO aumentaba o permanecía estable comparado con el 100% en niños sanos.¹⁴⁵ Sin embargo, en otros dos estudios con 30 y 66 pacientes respectivamente, el Z-score de DMO aumentó durante el seguimiento.^{149, 150} En un estudio en 35 niños en Brasil aunque se observó aumento de la DMO a los 2 años, no hubo mejoría en el Z-score de DMO a nivel lumbar y corporal, incluso a nivel corporal total empeoraba.¹⁵¹ El resto de estudios longitudinales han evaluado el impacto de TDF.

A diferencia de lo que ocurre en adultos, hasta la fecha no se ha observado una mayor incidencia de fractura en población pediátrica con infección perinatal por VIH en comparación con niños no infectados.¹⁵² Sin embargo, hay casos anecdóticos documentados¹⁵³ y se ha observado un aumento de incidencia de fracturas en un estudio en una cohorte de jóvenes infectados por VIH (87% con infección perinatal) en el periodo 2008-2014¹⁵⁴ respecto a estudio previo en el periodo 2004-2007.¹⁵²

1.4.3.4. Etiología y factores de riesgo

La etiología de DMO baja en la infección por VIH parece ser multifactorial, incluyendo factores asociados a disminución de DMO comunes a la población general así como el efecto de la infección por VIH y de los ARV.^{78, 155}

Factores de riesgo tradicionales

En adultos infectados por VIH coexisten varios factores de riesgo comunes con la población general asociados a DMO baja como edad avanzada, bajo IMC, consumo de alcohol y tabaco, menopausia, hipogonadismo, hipertiroidismo, hiperparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, ingesta insuficiente de calcio, uso de corticoides, abuso de drogas, coinfección por VHC y comorbilidades como la alteración de función renal.^{43,}

155-160

En niños y adolescentes con infección por VIH también se han identificado varios factores asociados a DMO baja como bajo peso¹⁴⁵ o talla^{136, 139, 145} o IMC¹⁴⁸ para la edad, alteración de la composición corporal¹⁴⁸ e ingesta de calcio insuficiente.¹³⁷ La raza negra^{144, 145} y la actividad física¹⁴⁴ se han encontrado como factores protectores en algunos estudios. La deficiencia de vitamina D es frecuente en la infección pediátrica por VIH,^{161, 162} aunque no se ha encontrado como factor asociado a DMO baja.^{139, 148}

Factores de riesgo asociados a la infección por VIH

A parte de los factores de riesgo tradicionales, la infección por VIH y el TAR parecen contribuir a la disminución de la DMO.

Existe evidencia de que el inicio de TAR se asocia a disminución de la DMO (tanto en pacientes naive¹⁶³ como en terapia de segunda línea¹⁶⁴), seguido de estabilización posterior,¹⁶⁵ que se ha relacionado con aumento del catabolismo óseo.¹⁶⁶ Dentro de los ARV, los IP^{167, 168} y TDF^{167, 169-171} se han asociado a mayor disminución de la DMO en estudios aleatorizados en adultos, aunque los IP con menor consistencia. Además, la exposición a TDF se ha asociado a mayor riesgo de fractura en adultos con infección por VIH.¹⁷²

En población pediátrica con infección perinatal, se han identificado como factores de riesgo los IP (sobre todo si potenciados con RTV),^{135, 140, 144, 147} TDF¹⁴⁸, lamivudina¹⁴⁴ y estavudina.¹³⁵ Existen varios estudios longitudinales que evalúan el impacto de TDF sobre el hueso con resultados controvertidos.¹⁷³⁻¹⁷⁷ No se ha documentado mayor incidencia de fractura con el uso de TDF en población pediátrica.¹⁷⁸

Por otra parte, se ha descrito DMO baja también en pacientes adultos naive a TAR,¹⁷⁹ sugiriendo un papel del virus y de la infección crónica. En estudios realizados en adultos, DMO baja se ha asociado a viremia no controlada,¹⁸⁰ menor recuento de linfocitos T CD4⁺,¹⁸¹ menor nadir de CD4,^{157, 182, 183} estadio avanzado de la infección¹⁸⁴ y mayor duración de la infección.¹⁸⁵ Así mismo, en niños y adolescentes con infección perinatal, la DMO baja se ha asociado a estadio avanzado de la infección,^{139, 143, 145} pico de CV alto¹⁴⁹ y linfocitos T CD4⁺ bajos,^{149, 150} aunque los resultados no son consistentes en todos los estudios publicados.

Hay estudios *in vitro* que sugieren que las proteínas virales son capaces de aumentar la actividad de osteoclastos,¹⁸⁶ la diferenciación de los osteoclastos,¹⁸⁷ y alterar la función de osteoblastos.¹⁸⁸ Aunque el efecto directo del virus *per se* es difícil de separar de los efectos de la infección crónica. La infección por VIH se caracteriza por una activación inmune crónica,¹⁸⁹ solo parcialmente restablecida por TAR,¹⁹⁰ con niveles de citoquinas proinflamatorias altos. Se ha postulado que la activación inmune crónica y la inflamación persistente contribuyen a la disminución de la DMO en la infección por VIH.¹⁹¹ Sin embargo, el papel de la activación inmune e inflamación crónica en el desarrollo de DMO baja en la infección por VIH no está bien establecido, ya que existen muy escasos estudios con resultados contradictorios y ninguno en población pediátrica. Un estudio realizado en 62 adultos, la mayoría en TAR, detectó que la activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ (HLADR⁺) era un marcador predictor independiente de DMO baja.¹⁹² Niveles altos de marcadores de inflamación y activación de linfocitos T CD4⁺ (CD38⁺HLADR⁺) previo al inicio de TAR en 328 pacientes naive se asociaron independientemente a mayor disminución de la DMO tras el inicio de TAR.¹⁹³ Sin embargo, otro estudio realizado en 142 adultos VIH en TAR no mostró correlación entre DMO y activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ (CD38⁺HLADR⁺) o marcadores de inflamación.¹⁹⁴

1.4.3.5. Prevención y manejo terapéutico de la osteoporosis en el niño y adolescente con infección por VIH

Como medidas preventivas para evitar osteoporosis es importante promover un estilo de vida saludable (nutrición adecuada, evitar alcohol y tabaco), estimular la realización regular de ejercicio físico de carga, asegurar ingesta adecuada de calcio y vitamina D, y evitar o minimizar medicación como corticoides sistémicos y medroxiprogesterona.^{195,}
196

En pacientes con DMO baja y/o fracturas por fragilidad, aparte de las estrategias anteriores, se recomienda considerar suplementar de forma rutinaria la ingesta de vitamina D y calcio. Respecto al TAR, no existe evidencia sólida para el cambio de pauta de ARV. Se recomienda valorar sustituir TDF o IP por otro ARV que no asocie impacto negativo en el hueso siempre que se espere que el nuevo régimen sea eficaz para mantener la CV indetectable y sea bien tolerado. El uso de bifosfonatos, que

inhiben la resorción mediada por osteoclastos, no está bien establecido en niños,^{195, 196} aunque se ha sido utilizado con éxito en algunos casos de niños con infección por VIH con osteoporosis severa y se podría valorar su uso en niños con DMO baja y fracturas no traumáticas o dolores óseos importantes.¹⁹⁷

1.5. INFECCIÓN VIH Y EL SISTEMA INMUNE

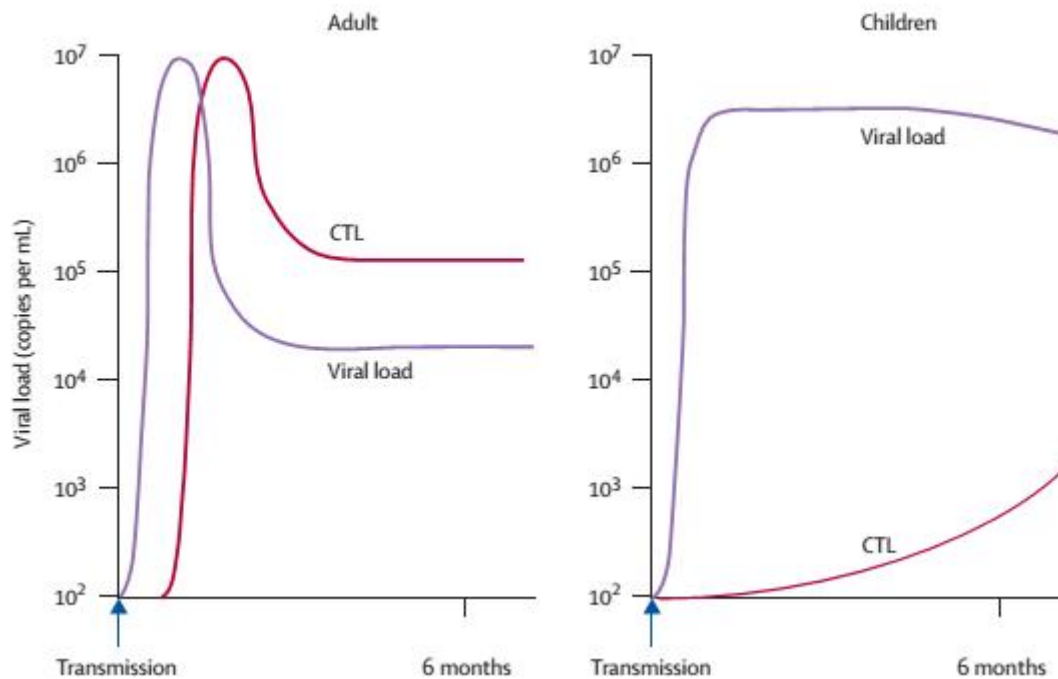
1.5.1. Respuesta inmunitaria frente a la infección por VIH

En la respuesta inmunológica a la infección por VIH intervienen la inmunidad innata y la adquirida, tanto celular con humoral.¹³

Al inicio de la infección, se generan anticuerpos frente a proteínas del VIH, aunque son escasos aquellos con capacidad neutralizante, por lo que pronto se produce escape viral.¹⁹⁸

Los linfocitos T CD8⁺ juegan un papel importante en el control de la replicación viral. En adultos, el descenso de la CV se asocia a la emergencia de la respuesta de linfocitos T CD8⁺.^{199, 200} Los linfocitos T CD8⁺ citotóxicos interaccionan con las células diana infectadas por el VIH a través del receptor de la célula T que reconoce los péptidos virales presentados en la membrana de superficie por las moléculas MHC-I e induce la apoptosis de la célula infectada. En la infección vertical, la respuesta de linfocitos T CD8⁺ frente a VIH se detecta ya desde el momento del nacimiento,²⁰¹ pero en menor frecuencia y de menor magnitud que en niños mayores y adultos.²⁰¹⁻²⁰³ Esta respuesta es insuficiente para controlar la viremia, por eso en la infección vertical la CV permanece típicamente elevada y no disminuye con el tiempo como ocurre en los individuos adultos. La magnitud y amplitud de la respuesta específica contra VIH de linfocitos T CD8⁺ aumenta con la edad.²⁰⁴ (**Figura 18**)

Figura 18. Cambios en la carga viral y linfocitos T CD8⁺ citotóxicos en adultos y en niños.



CTL: Cytotoxic T lymphocytes (Linfocitos T citotóxicos)
 Fuente: Prendergast 2007.¹⁵

Para mantener la respuesta efectiva antiviral de los linfocitos T CD8⁺, se requiere la ayuda de los linfocitos T CD4⁺. Además de proporcionar ayuda a los linfocitos T CD8⁺, se ha detectado respuesta específica frente a VIH de linfocitos T CD4⁺ en niños infectados por vía vertical, pero en menor frecuencia que en adultos y aumenta con la edad,²⁰⁵ correlacionándose negativamente con la viremia o CV.²⁰⁶

A pesar de la respuesta inmunológica, el organismo no es capaz de erradicar el virus, debido a la existencia de reservorios, la depleción progresiva de linfocitos T CD4⁺, la disfunción de linfocitos T CD8⁺ por agotamiento ante la estimulación antigénica persistente y escape viral por la emergencia de mutaciones.

La respuesta inmunológica es diferente en la infección perinatal respecto al adulto porque ocurre en un sistema inmune inmaduro.¹³ Además hay una alta frecuencia de genes HLA asociados a peor control virológico y se transmiten anticuerpos maternos anti-VIH no neutralizantes que pueden inhibir el desarrollo de una respuesta inmune

específica frente a VIH en el niño. Pero los niños tienen la ventaja de un timo funcional que les confiere una mejor capacidad para la reconstitución del sistema inmune.¹⁵

1.5.2. Cambios inmunológicos por la infección por VIH: Activación y Senescencia

La infección crónica por VIH produce disfunción e hiperactivación del sistema inmune, que conduce al agotamiento y senescencia precoz del sistema inmune.

1.5.2.1. Activación del sistema inmune

El VIH induce un estado de activación inmune, que se caracteriza por activación de linfocitos T y B, monocitos y células NK y niveles elevados de citoquinas inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6).²⁰⁷ La activación de linfocitos T se caracteriza por la expresión de marcadores de activación HLA-DR⁺ y/o CD38⁺ en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺. El TAR disminuye significativamente los niveles de activación inmune, pero sigue siendo elevados respecto a controles.²⁰⁸

En la infección vertical, también se ha detectado mayor activación de linfocitos T CD4⁺²⁰⁹ y CD8⁺^{209, 210} en niños sin TAR comparado con niños sanos. Como en adultos, el TAR disminuye la activación de linfocitos T CD8⁺,^{211, 212} pero permanece elevada en aquellos con viremia persistentemente elevada.^{211, 213} Respecto a los linfocitos T CD4⁺, niños con infección vertical en TAR presentan mayor activación (HLADR⁺) de linfocitos T CD4⁺ de memoria efectora y de memoria efectora RA (T_{EMRA}) comparado con niños sanos.²¹⁴

Varios mecanismos pueden conducir a hiperactivación inmune: la replicación del VIH y la respuesta inmune frente al virus y sus antígenos, la función inmunomoduladora de determinadas proteínas virales del VIH, la translocación bacteriana por daño en la mucosa intestinal y la reactivación de virus endógenos (como el CMV).²⁰⁷ **(Figura 19)** La infección aguda por VIH causa depleción de linfocitos T CD4⁺ del tejido linfoide de la mucosa intestinal (MALT) independientemente de la vía de infección y daño en la mucosa intestinal. Como resultado de la disrupción la barrera tanto física como celular, pasan productos microbianos del intestino a la circulación sistémica, produciendo

activación inmune.¹⁸⁹ En la infección vertical, se han observado mayores niveles de marcadores de translocación bacteriana que en sanos y que persisten tras TAR.²¹⁵ Se ha correlacionado con la activación inmune en niños en TAR²¹⁵ y con la activación y agotamiento inmune en niños naive al TAR.²¹⁶

Las consecuencias de la hiperactivación inmune incluyen las siguientes:^{207, 217, 218}

(Figura 19)

- depleción de linfocitos T CD4⁺ y la replicación viral, ya que el VIH tiene preferencia por los linfocitos T CD4⁺ activados
- aumento del turnover linfocitario, con agotamiento inmune y apoptosis
- disfunción inmune de linfocitos B, células NK y células dendríticas y monocitos, que produce menor control viral con mayor replicación y por lo tanto más activación
- daño del tejido linfoide: citoquinas como TGFβ-1 producen daño del tejido linfoide, con depósito de colágeno, fibrosis y distorsión, lo que disminuye el turnover linfocitario, limitando la reconstitución inmune²¹⁹
- estado de inflamación crónica: niveles elevados de citoquinas proinflamatorias (TNF, IL-6, IL-1) y factores de coagulación

La activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se ha asociado en adultos infectados por VIH a mayor progresión a SIDA,^{220, 221} una incompleta reconstitución del sistema inmune,²²²⁻²²⁴ mayor mortalidad,^{223, 225} y comorbilidades no SIDA, como la enfermedad cardiovascular,²²⁶⁻²²⁸ alteraciones neurocognitivas,²²⁹ menor capacidad funcional,²³⁰ y DMO baja.¹⁹² En niños infectados por VIH se ha asociado también a mayor progresión a SIDA,²³¹ aunque no de forma consistente en todos los estudios,²³² y a una incompleta reconstitución del sistema inmune.²³³

Así mismo, varios marcadores de inflamación crónica (TNF, IL-6, proteína C reactiva de alta sensibilidad), que permanecen elevados a pesar del TAR comparado con individuos no infectados,²³⁴ se han asociado a mayor riesgo de morbilidades no SIDA,^{235, 236} enfermedades no SIDA asociadas a la edad,²³⁷ enfermedad cardiovascular,²³⁸ cáncer²³⁹ y mortalidad.^{240, 241}

La activación inmune y la inflamación crónica se ha sugerido como causa de envejecimiento prematuro de las funciones fisiológicas en la infección por VIH en la era post TARGA, proceso definido como "inflammaging".²⁰⁷

1.5.2.3. Agotamiento y Senescencia Inmune

La activación crónica induce un agotamiento y senescencia del sistema inmune.

La activación inmune persistente produce una selección de poblaciones linfocitarias con pérdida de sus capacidades efectoras y de proliferación frente antígenos. Este estado de agotamiento inmune se caracteriza por aumento de correceptores inhibitorios en células T CD4⁺ y CD8⁺ como PD-1 y Tim-3, que se correlaciona con marcadores de progresión de la infección VIH en adultos.²⁴² En la infección vertical, se ha detectado aumento de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ que expresan Tim-3 en adolescentes (con mayor tiempo de infección que niños de menor edad) y se ha correlacionado con la viremia o CV. La expresión de PD-1 se ha correlacionado con la activación inmune.²⁴³

Además, la activación crónica induce a acúmulo de linfocitos senescentes, que se caracterizan porque son linfocitos diferenciados, con pérdida de CD28⁺ y aumento de expresión de CD57 en células T CD8⁺ y CD4⁺, pérdida de capacidad para producir IL-2, menor capacidad de proliferación y acortamiento de telómeros (senescencia replicativa).^{207, 244, 245}

Parte de estas alteraciones en el perfil inmunológico (aumento de linfocitos T senescentes, descenso de linfocitos T naive, involución del timo...) que ocurren en adultos con infección por VIH no tratados son similares a aquellas que ocurren en las personas no infectadas de mayor edad, por lo que se ha llamado inmunosenescencia prematura o envejecimiento precoz.²⁴⁶⁻²⁴⁸ El TAR mejora el perfil de senescencia de los linfocitos T en individuos VIH, pero persiste elevado a pesar de la supresión viral cuando se compara con individuos no infectados.²⁴⁹

En niños infectados por VIH por transmisión vertical en TAR se han detectado también mayores niveles de marcadores de senescencia (CD28⁻ y CD57⁺) en linfocitos T CD4⁺²¹⁴ y CD8⁺^{213, 250} comparado con niños sanos no VIH. En un estudio en 57 niños con

infección VIH vertical en TAR comparado con 32 niños controles sanos no infectados, los linfocitos T CD4⁺ totales presentaron mayores niveles de marcadores de senescencia (CD28⁻CD57⁺), independientemente de la CV. Analizando por subpoblaciones, los linfocitos T CD4⁺ memoria, memoria efectora y T_{EMRA} (pero no CD4⁺ naive) mostraron mayores niveles de marcadores de senescencia comparado con niños sanos no infectados.²¹⁴ Respecto a los linfocitos T CD8⁺, en un subestudio del mismo grupo, los niños con infección por VIH tenían mayor frecuencia de marcadores de senescencia en CD8⁺ memoria, memoria efectora y T_{EMRA} respecto a los niños sanos. La presencia de CV detectable (>50copias/mL) agravaba estos patrones de senescencia en estas subpoblaciones de linfocitos T CD8⁺. Además, los niños que presentaban CV detectable tenían menor frecuencia de linfocitos T CD8⁺ naive, que mostraban mayor proporción de marcadores de senescencia que los niños infectados con CV indetectable y que los niños sanos de la misma edad.²¹³

La senescencia inmune se ha relacionado con un estado proinflamatorio, ya que se ha demostrado que las células senescentes pueden tener un perfil secretor de citoquinas proinflamatorias.^{251, 252}

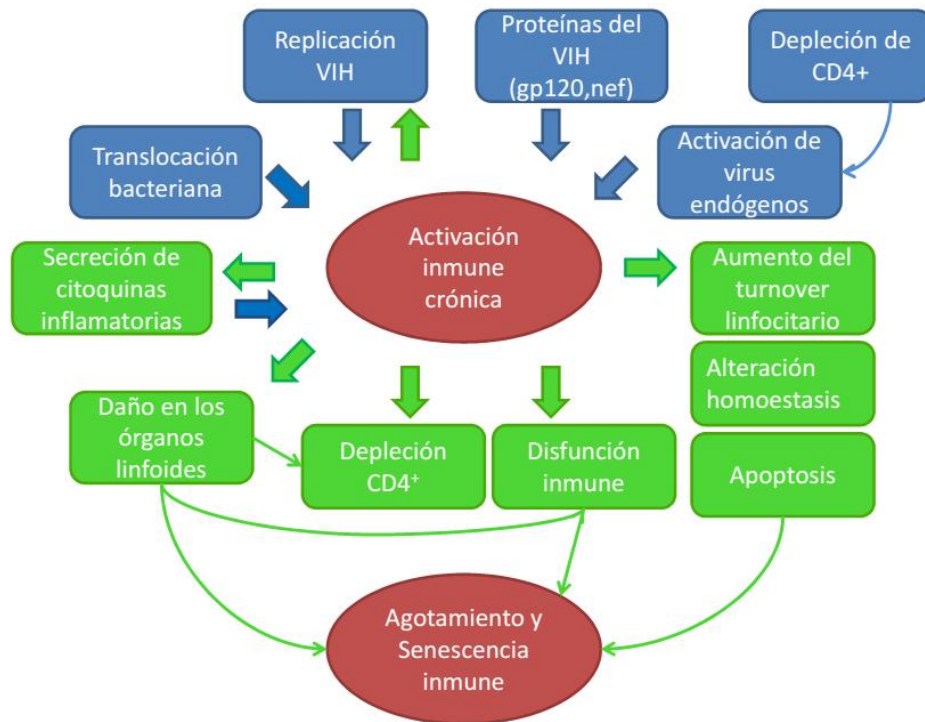
El impacto de la senescencia inmune en la infección por VIH es objeto de estudio en la actualidad. Diferentes estudios han demostrado asociación de patrones de senescencia inmune con peor respuesta inmunológica (CD4⁺CD28⁻ y CD8⁺CD28⁻)²⁴⁹ mayor progresión de la infección VIH (CD4⁺CD28⁻ y CD8⁺CD28⁻),²⁵³ menor respuesta a vacunas (CD4⁺CD28⁻),²⁵⁴ enfermedad cardiovascular subclínica (CD8⁺CD28⁻CD57⁺)^{226, 227} y sarcoma de Kaposi (CD8⁺ CD28⁻ CD57⁺ y CD4⁺CD28⁻ CD57⁺).²⁵⁵

Se ha sugerido que la inmunosenescencia en la infección por VIH contribuye la inmunodeficiencia persistente y a la aparición precoz de enfermedades asociadas a la edad.²⁴⁷

Respecto al hueso, hay un estudio publicado en individuos adultos con infección por VIH que evalúa la senescencia inmune, sin encontrar diferencias en la frecuencia de linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ senescentes (CD28⁻CD57⁺) entre los pacientes con DMO baja y DMO normal.¹⁹² Cambios en la DMO con el inicio del TAR en 328 adultos VIH naive se asociaron a mayores niveles de marcadores de senescencia-agotamiento inmune en

linfocitos T CD4⁺ (CD28⁻CD57⁺PD1⁺) basales, sin embargo estos cambios en la DMO no se relacionaron con la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ senescentes (CD28⁻CD57⁺) basales.¹⁹³

Figura 19. Patogénesis de la hiperactivación y senescencia precoz del sistema inmune asociada a la infección por VIH.



1.6. VITAMINA D Y SISTEMA INMUNE

Además de las funciones sobre el metabolismo del calcio y hueso, la vitamina D se ha implicado como modulador del sistema inmune.

El receptor de la vitamina D se encuentra en los linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺, monocitos y macrófagos.²⁵⁶ La vitamina D estimula la inmunidad innata a través de potenciar la quimiotaxis y fagocitosis de macrófagos, así como la secreción de sustancias antimicrobianas, y modula la inmunidad adaptativa. Los linfocitos T CD4⁺ colaboradores cuando se activan se pueden especializar en Th1, Th2 o Th17, siendo el perfil de citoquinas de Th2 antiinflamatorio y el de Th1 y Th17 proinflamatorio. La

vitamina D favorece la polarización hacia Th2, inhibe la producción de las citoquinas de Th1 (IL-2 e IFN- γ) y Th17 (IL-17 e IL-21) y estimula las citoquinas de Th2 (IL-4). Además, la vitamina D induce linfocitos T reguladores o T_{Reg}.²⁵⁷ Inhibe la proliferación de linfocitos T y la actividad citotóxica de linfocitos T CD8⁺.²⁵⁸ Hay datos que sugieren que la vitamina D regula el receptor de antígenos de linfocitos T y la activación de linfocitos T.²⁵⁹

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS

2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En la actualidad, la patogenia de la disminución de la DMO en la infección por VIH no está aclarada y parece multifactorial.

La inflamación crónica, la activación inmune y la senescencia inmune asociadas a la infección crónica por VIH se han implicado en la patogénesis de varias comorbilidades no SIDA,^{207, 246, 247, 251} como la enfermedad cardiovascular. Sin embargo, el papel de estos fenómenos no ha está bien establecido en el hueso. Existen escasos estudios en adultos infectados por VIH que evalúen la activación y senescencia del sistema inmune en relación con la DMO, con resultados no concluyentes.^{192, 194} En la población pediátrica infectada por VIH por transmisión vertical, que tiene la característica única de haber sido infectada durante la maduración del sistema inmune, no hay ningún estudio que evalúe dicha relación.

Este estudio está justificado porque podría ayudar a un mejor entendimiento de los mecanismos patogénicos de la disminución de la DMO en el contexto de la infección por VIH, que es de gran necesidad para disponer de un enfoque terapéutico y preventivo adecuado. Así mismo, sería muy importante identificar aquellos sujetos de mayor riesgo. En el caso de la infección por VIH pediátrica, la prevención de la disminución de la DMO es esencial con el objetivo de evitar el desarrollo de osteoporosis y fracturas en la edad adulta, ya que son etapas cruciales para la adquisición de masa ósea. Por otra parte la identificación de marcadores inmunológicos podría contribuir al diagnóstico y ser una herramienta para la detención precoz de la disminución de la DMO.

2.2. HIPÓTESIS

La DMO disminuida en los pacientes con infección por VIH por transmisión vertical está asociada con la hiperactivación y senescencia prematura del sistema inmune.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Determinar si existe relación entre la disminución de la DMO con la hiperactivación del sistema inmune y/o inmunosenescencia asociada a la infección por VIH en una cohorte de niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar la prevalencia de la DMO disminuida en una cohorte de niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.
- Evaluar posibles factores de riesgo asociados a la DMO disminuida:
 - marcadores de la infección por VIH
 - tratamiento antirretroviral o TAR
 - niveles de vitamina D y PTH
 - factores tradicionales
- Evaluar si un estado proinflamatorio estimado a través de marcadores séricos de inflamación se asocia a DMO baja.
- Evaluar la relación entre la vitamina D y la senescencia y activación del sistema inmune.

4. PACIENTES Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional de corte transversal, multicéntrico. La inclusión de pacientes se inició en Junio 2012 y finalizó en Diciembre 2013.

El estudio realizado se ha dividido en tres grupos principales:

1. Análisis de la prevalencia de disminución de la DMO. Se incluyeron todos los niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical con densitometría ósea disponible.
2. Análisis de senescencia/activación inmune y su relación con la DMO: en un subgrupo de pacientes con muestras disponibles para análisis inmunológicos.
3. Análisis de estado proinflamatorio y su relación con la DMO: en un subgrupo de pacientes seleccionados aleatoriamente.

4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Niños, adolescentes y adultos jóvenes con infección por VIH de transmisión vertical en seguimiento en las consultas externas de los hospitales de la Comunidad de Madrid, pertenecientes a la Cohorte de Madrid de Niños Infectados por VIH.

La Cohorte de Madrid de Niños Infectados por VIH es una cohorte prospectiva y multicéntrica en la cual participan 9 hospitales públicos de la Comunidad de Madrid (Hospital La Paz-Hospital Carlos III, Hospital Gregorio Marañón, Hospital 12 Octubre, Hospital de Getafe, Hospital Clínico San Carlos, Hospital Príncipe de Asturias, Hospital Universitario Niño Jesús, Hospital de Móstoles y Hospital de Torrejón). La cohorte recoge de manera prospectiva los datos epidemiológicos, clínicos, analíticos y el TAR de los niños infectados por VIH en la Comunidad de Madrid desde el año 2003, recopilando los datos anteriores a este año retrospectivamente. Los datos se recogen mediante un formulario estandarizado semestral o anualmente y se incluyen en una base de datos. La Cohorte de Madrid de Niños Infectados por VIH está integrada en CoRISpe, Cohorte Nacional de la Red de Investigación en Sida Pediátrico, fundada en el 2008,⁶ de la que constituye el núcleo principal.

Se incluyeron todos los pacientes menores o igual a 20 años de edad con DXA reciente en el momento del inicio del estudio (se considera en el año previo) o realizada durante el periodo de inclusión.

Los criterios de exclusión fueron:

- Edad > 20 años
- No infección vertical
- No firma de consentimiento informado de CoRISpe y BioBanco
- No DXA disponible reciente

4.3. VARIABLES DE ESTUDIO

4.3.1. Variables principales

- DMO (g/cm^2) medida por DXA , Z-score de DMO y Z-score de DMO ajustado por Z-score de talla.
- Marcadores de activación ($\text{HLADR}^+\text{CD38}^+$) y senescencia ($\text{CD28}^-\text{CD57}^+$) en linfocitos T CD4^+ y CD8^+ .

4.3.2. Variables secundarias

- Demográficas:
 - Edad: años en momento de realización de la DXA y citometría flujo.
 - Sexo.
 - Etnia.
- Antropométricas (momento de DXA):
 - Peso, Z-score de peso.
 - Talla, Z-score de talla.
 - IMC, Z-score de IMC.
- Marcadores de la infección por VIH
 - Estadio clínico e inmunológico según la clasificación CDC 1994 (Anexo 1).
 - Presencia de encefalopatía (definida acorde a los criterios CDC).⁵¹
 - Nadir de CD4: el menor nivel histórico registrado de linfocitos T CD4^+ .

- Tiempo de inmunosupresión grave: meses con recuento de linfocitos T CD4⁺ < 200 cel/mm³.
 - Tiempo de supresión viral: tiempo acumulado con CV indetectables (definidas con CV < 50 cop/mL y antes del 2002 CV < 400 cop/mL).
 - Recuento de linfocitos T CD4⁺ y CV en el momento de la DXA.
- TAR:
- TAR: si/no.
 - Pauta de TAR en el momento de DXA.
 - Tiempo de exposición acumulada a: ARV, ITINN e IP (años)
 - TDF:
 - Uso de TDF en el momento de DXA: si/no.
 - Exposición previa a TDF: si/no.
 - Tiempo de exposición acumulada a TDF (años).
 - Nuevos ARV en el momento de la DXA: MVC, RAL, DRV, otros.
 - Edad de inicio de TAR y TARGA (años).
- Otros datos:
- Lipodistrofia: evaluada clínicamente acorde a los criterios de "European Paediatric Lipodystrophy Group".²⁶⁰
 - Estadio puberal de Tanner.
 - Coinfección por VHB o VHC.
 - Tabaco.
 - Ejercicio físico estimado mediante autocuestionario:
 - No actividad.
 - Leve: < 2 horas/ semana.
 - Moderado: 2-4 horas/semana.
 - Intenso: > 4 horas /semana.
 - Consumo diario estimado de vitamina D mediante autocuestionario (recuerdo de la última semana sobre la ingesta de lácteos, pescado azul y huevos. Según la cantidad reportada y el contenido de vitamina D de cada alimento,²⁶¹ se calculó la ingesta media diaria de UI de vitamina D).
- Marcadores de metabolismo óseo:
- Vitamina D: 25 hidroxivitamina D (ng/mL):
 - Deficiencia: ≤ 20 ng/mL.
 - Insuficiencia: 20 - 30 ng/mL.

- Suficiencia: 30 - 100 ng/mL.
- Toxicidad: > 100 ng/mL.
- Paratohormona (PTH) (pg/mL):
 - PTH elevada: >65 pg/mL.
- Fosfatasa alcalina sérica (UI/mL).
- Marcadores séricos de activación:
 - Interleucina 6 (IL-6) (pg/mL).
 - Proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCRhs) (mg/L).
 - CD14 soluble (CD14s) (microgr/mL).

4.4. ANÁLISIS DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA: DENSITOMETRÍA ÓSEA

La DMO se midió por densitometría ósea (absorciometría de rayos X de doble energía, dual-energy X-ray absorptiometry, DXA) a nivel de la columna vertebral lumbar (L1-L4), usando 2 tipos de escaners Hologic® (Hologic Inc., Bedford, MA, USA) o Lunar Prodigy® (GE Healthcare, UK) según los hospitales participantes. No se consideró la medida de DMO a nivel de cadera para el estudio.

La DMO (g/cm^2) a nivel lumbar se expresó en Z-score, que define el número de desviaciones estándar de la DMO de un niño respecto al promedio de DMO comparando con otros niños de su misma edad, sexo y etnia. Los Z-scores de DMO fueron proporcionados por el software del densitómetro, excepto en algunos casos de DXA por Lunar. En estos casos se calculó el Z-score de DMO según las tablas de referencia de población española pediátrica.²⁶² No se realizó correcciones de la DMO entre los diferentes densitómetros, ya que se utilizó el Z-score de DMO proporcionado por cada técnica.

Se consideró DMO baja para la edad cronológica cuando Z-score ≤ -2 DE de acuerdo a la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica ("International Society for Clinical Densitometry", ISCD).⁹¹

Se realizó ajuste de los valores de DXA por la talla, a través del método propuesto por Zemel et al²⁶³ usando el Z-score de talla. Mediante la serie de ecuaciones publicadas por Zemel et al,²⁶³ se calculó el Z-score de DMO ajustado por Z-score de talla (ZDMOtalla). Previamente los mismos autores habían demostrado que este método de ajuste por la talla es el que menos sesgos produce para la corrección por el tamaño corporal de la medida de DMO por DXA respecto a otros métodos (BMAD, altura para la edad).¹⁰⁵ Además, este método de ajuste ha sido recomendado recientemente por la ISCD.⁹¹

4.5. TÉCNICAS DE LABORATORIO

Se obtuvieron muestras de sangre de los pacientes por venopunción. Una parte se procesó en los hospitales participantes para determinación de CV, recuento de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ y determinación de niveles de vitamina D, PTH y fosfatasa alcalina dentro de los procedimientos rutinarios. Además, se solicitó a los pacientes o padres/tutores el consentimiento informado para poder utilizar las muestras para investigación. Las muestras de sangre, tras la firma de la documentación pertinente, se enviaron al BioBanco VIH HGM, donde se recibieron, procesaron y almacenaron a -80° si era suero o plasma y a -180° si eran células mononucleares de sangre periférica (CMSP) siguiendo los procedimientos normalizados de trabajo.²⁶⁴

Para la obtención de CMSP las muestras de sangre se depositaron en tubos de 10 ml, con Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Uppsala, Suecia). Los tubos se centrifugaron a 800 g durante 30 minutos a 24°C y se recogió la banda de densidad que contenía las CMSP. Estas células se lavaron con medio de cultivo RPMI 1640 (Seromed, Biochrom). Posteriormente, se procedió al recuento de CMSP. Las CMSP obtenidas se resuspendieron en medio de cultivo RPMI suplementado con 10 % de suero fetal de ternera previamente ensayado (FCS) (Seromed, Biochrom), L-glutamina 2mM (Flow), 50U/ml de penicilina (Flow) y 50U/ml de estreptomicina (Flow) y se criopreservaron a -180°C hasta su utilización para llevar a cabo la cuantificación de subpoblaciones celulares (activación e inmunosenescencia).

4.5.1. Cuantificación de ARN viral (carga viral)

Se cuantificaron los valores de ARN viral VIH-1 en plasma de los niños utilizando el ensayo comercial de transcriptasa reversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) con un límite de detección inferior a 50 copias/mL (VIH-1 ensayo Cobas® TaqMan®; Roche Diagnostics Systems Inc, Pleasanton, CA, EE.UU.).

4.5.2. Cuantificación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ en sangre total

El recuento absoluto y el porcentaje de linfocitos T CD4⁺ y T CD8⁺ de sangre periférica. se cuantificaron por inmunofluorescencia directa, utilizando anticuerpos monoclonales de la serie T, Anti-IgG₁ marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), Anti-IgG₁ marcado con ficoeritrina (PE) y Anti-CD4 o Anti-CD8 marcados con peridín clorofila (PerCP)(Becton-Dickinson, Immunocytometry Systems, San José, Ca, EE.UU.). La adquisición se llevó a cabo en un citómetro FACScan (Becton-Dickinson, San José C.A., EE.UU.), utilizando el programa de adquisición Lysis II (Becton-Dickinson, San José C.A., EE.UU.) dentro de las dos horas siguientes a la tinción de las células. En todos los casos se utilizó un control de fluorescencia inespecífica, utilizando una inmunoglobulina del mismo isotipo que el de los anticuerpos monoclonales específicos, y que no presentó reactividad con células sanguíneas humanas. Después de 30 minutos de incubación a 4°C y resguardadas de la luz, las células se lavaron 2 veces a 4°C, con RPMI-1640 suplementado con un 2% de FCS y azida sódica (0,05%), centrifugando a 400xg durante 5 minutos para eliminar el exceso de anticuerpo marcado con fluorocromo.

4.5.3. Marcadores de metabolismo óseo: Vitamina D, PTH y Fosfatasa alcalina sérica

Los niveles de vitamina D (25-hidroxivitamina D) se midieron por inmunoensayo cuantificando la producción de quimioluminiscencia (ARQUITECT i1000SR®, Abbott Diagnostics, Lake Forest, IL, EE.UU.). Los niveles de hormona paratiroidea sérica (PTH) se llevaron a cabo por inmunoensayo utilizando quimioluminiscencia directa (ADVIA Centauro XP®, Siemens Healthcare, Tarrytown, Nueva York, EE.UU.). Finalmente, los niveles de fosfatasa alcalina sérica se determinaron utilizando métodos

comerciales automatizados (ADVIA 2400, Siemens Healthcare, Tarrytown, NY, EE.UU.).

4.5.4. Marcadores de senescencia y activación en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺

En un subgrupo de pacientes con infección por VIH se realizó un análisis de subpoblaciones linfocitarias T CD4⁺ y CD8⁺ de activación y senescencia inmune en la Sección de Inmunología, Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Las muestras de sangre se lisaron mediante la adicción de una solución de lisis OptiLyse® No-Wash Lysing Solutions (Beckman Coulter, Fullerton, CA, EE.UU.) a 100 µL de sangre, mezclando e incubando durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se repartió 100 µL en varios tubos y se añadió los anticuerpos monoclonales correspondientes. Se utilizaron los siguientes anticuerpos monoclonales frente a antígenos de membrana de los leucocitos conjugados con fluorocromos: CD57-isotiocianato de fluoresceína, CD28-ficoeritrina, CD45RA-ficoeritrina-rojo texas (Beckman Coulter, Florida, EE.UU), CD4-alofococianina-cianina 5, CD38-alofococianina -cianina 7 (eBioscience, San Diego, CA, EE.UU.), HLADR-alofococianina, CD8 Pacific Blue (BioLegend, San Diego, CA, EE.UU.), CD3-Pacific Orange (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU). La combinación de estos anticuerpos monoclonales permite identificar el linaje celular, el grado de activación y el grado de senescencia. La activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se caracterizó como coexpresión de los marcadores HLADR⁺ y CD38⁺, y la inmunosenescencia por la expresión de los marcadores CD28⁻ y CD57⁺. Las células marcadas fueron visualizadas mediante citometría de flujo utilizando el citómetro de flujo FACS Gallios™ y los datos fueron analizados utilizando el software Kaluza® Flow Analysis Software (Beckman Coulter, Florida, EE.UU).

4.5.5. Marcadores de inflamación y activación séricos

En un subgrupo de pacientes con infección por VIH se analizaron marcadores de inflamación sérica, proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCRhs) e interleuquina-6 (IL-6), y marcadores de activación de monocitos como CD14 soluble (CD14s). La

determinación se realizó a partir de muestras congeladas de suero utilizando kits comerciales de ELISA ("enzyme-linked immunosorbent assays", ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas) (eBioscience, Inc, San Diego, EE.UU.).

4.6. DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Se recogió el peso y talla de los pacientes en el momento de la DXA. El IMC se calculó según la fórmula $\text{peso}(\text{kg})/\text{talla}(\text{metros})^2$. Se calculó el Z-score de peso, talla e IMC para la edad y sexo según datos de referencia de población pediátrica española.²⁶⁵

Se consideró talla o peso baja para la edad si el Z-score correspondiente fue ≤ -2 . El estado nutricional se determinó a través de Z-score de IMC. Se consideró malnutrición si el Z-score de IMC fue < -2 , sobrepeso si el Z-score de IMC fue $> +1$ (equivalente a 25 kg/m^2 en mayores de 19 años) y obesidad si el Z-score de IMC fue $> +2$ (equivalente a 30 kg/m^2 en mayores de 19 años).²⁶⁶

4.7. DESARROLLO DEL ESTUDIO

En las visitas rutinarias de los pacientes, dentro del seguimiento que se lleva a cabo en los diferentes hospitales, se realizó densitometría ósea y analítica general incluyendo recuento de linfocitos T CD4⁺, CV, vitamina D, PTH y fosfatasa alcalina y se enviaron muestras de sangre al BioBanco VIH HGM para que fueran recepcionadas, procesadas y almacenadas.²⁶⁴

Los datos clínicos se obtuvieron de las historias clínicas de los pacientes, de la red informática de los diferentes hospitales y de la base de datos de CoRISpe, contando en todos los casos con el consentimiento informado de los pacientes o sus padres/tutores según la edad y siguiendo la normativa vigente.

Se realizó un autocuestionario sobre la actividad física (horas a la semana) y dietético para la estimación del consumo diario de vitamina D.

Respecto al estudio de inmunofenotipado, primero se realizó un estudio piloto. A pacientes seleccionados aleatoriamente se les realizó un estudio de citometría de flujo para análisis de inmunofenotipado dentro del estudio CaroVIH, cuyo objetivo era evaluar la asociación de la enfermedad vascular subclínica con marcadores de activación y senescencia inmune en pacientes infectados por VIH de la Cohorte de Madrid Niños Infectados por VIH.²⁶⁷ De estos pacientes con análisis disponible de inmunofenotipado, se recogieron los datos de DXA que se había realizado dentro de la práctica habitual de cada hospital. Posteriormente se amplió el número de muestras incluyendo el resto de pacientes de la Cohorte de Madrid de Niños Infectados por VIH que se realizaron una DXA dentro del periodo de inclusión.

Todos datos, clínicos y de inmunofenotipo, se introdujeron en una base de datos Excel creada para este fin. Posteriormente los datos se pasaron al programa estadístico SPSS ("Statistical Package for the Social Sciences") (v.20) (SPSS, Chicago, IL, EE.UU.) para su análisis.

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos del análisis descriptivo se expresaron como medianas y rango intercuartílico (RIQ) en el caso de variables cuantitativas y como frecuencia absoluta y porcentajes en el caso de variables cualitativas.

Para el análisis comparativo, se utilizó el test de Chi cuadrado o test exacto de Fisher para variables categóricas y el test U de Mann Whitney para variables cuantitativas. Las correlaciones entre variables cuantitativas se evaluaron mediante los coeficientes de correlación de Spearman.

Se verificó la normalidad de las variables utilizando la prueba de Kolmorov- Smirnov. Aunque la mayoría de las variables seguían una distribución normal, se eligieron pruebas no paramétricas para el análisis para aumentar la sensibilidad, debido a que el número de casos en el grupo de DMO baja fueron menos de 30 pacientes y para detectar asociaciones no lineales.

Se calculó la prevalencia de Z-score de DMO ≤ -1.0 , ≤ -1.5 y ≤ -2.0 (categorías no exclusivas) para el análisis descriptivo.

Los pacientes se clasificaron en dos grupos: DMO baja (Z-score de DMO ≤ -2) y DMO normal (Z-score de DMO > -2). Se compararon ambos grupos en relación con variables demográficas, factores relacionadas con la infección por VIH y factores tradicionales. Posteriormente se analizó el Z-score de DMO (ZDMO) como variable continua. Estos análisis se repitieron con la variable Z-score de DMO ajustado por talla (ZDMOtalla).

Para la evaluación de los predictores de DMO baja, se realizó análisis multivariante mediante modelos de regresión lineal múltiple a través del procedimiento stepwise. Se diseñaron 2 modelos según la variable dependiente: Modelo 1) ZDMO y Modelo 2) ZDMOtalla. Se incluyeron como variables independientes aquellas variables que en el análisis univariante mostraron significación estadística ($p < 0,05$) y/o fueron consideradas clínicamente significativas. La variable nadir de CD4 se computó con CD4/100. Las variables PTH y ejercicio físico no se incluyeron en el modelo debido a que no había datos de $> 15\%$ de los pacientes. Los resultados se expresaron en coeficiente de regresión (B) con intervalo de confianza (IC) de 95% .

A continuación, se analizó la relación entre DMO y los marcadores de activación y senescencia inmune. Los marcadores que resultaron significativos en el análisis univariante ($p < 0,05$), se incluyeron en un análisis multivariante para explorar el efecto sobre la DMO mediante una serie de análisis consecutivos de regresión lineal múltiple.

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS ("Statistical Package for the Social Sciences") (v.20) (SPSS, Chicago, IL, EE.UU). Se consideró estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$.

4.9. ASPECTOS ÉTICOS

Los datos de los pacientes incluidos en el estudio están en CoRISpe, base de datos aprobada por los Comités de Ética de Investigación Clínica (CEIC) de los hospitales participantes. El consentimiento informado de la cesión de los datos y muestras de todos

los padres o tutores legales de los participantes y de los pacientes mayores de 12 años, así como el asentimiento informado de los menores fue obtenido para CoRISpe⁶ y el BioBanco VIH HGM.²⁶⁴

El estudio sobre vitamina D fue informado al Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital de Getafe, centro coordinador en ese momento del proyecto de la Cohorte de Madrid de Niños y Adolescentes Infeccionados por VIH.

Los datos fueron introducidos en una base de datos anónima, garantizando la confidencialidad de los datos, a la que solo tenía acceso el investigador.

5. RESULTADOS

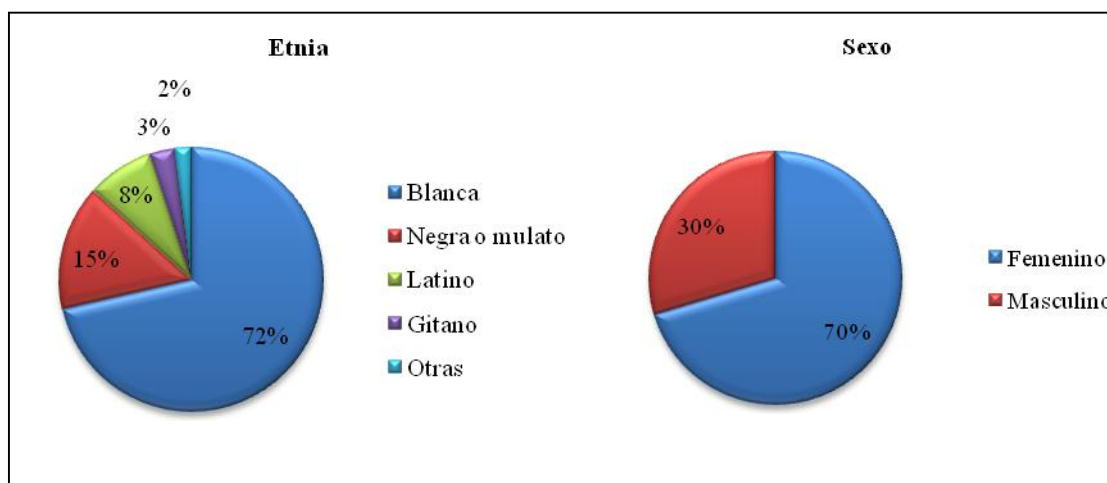
5.1. ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE LA DISMINUCIÓN DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y SU RELACIÓN CON VARIABLES CLÍNICAS

5.1.1. Descripción de las características epidemiológicas, clínicas e inmunológicas de los pacientes

En diciembre 2013 había 129 niños y adolescentes en seguimiento en la Cohorte de Madrid de Niños y Adolescentes Infectados por VIH, incluida en CoRISpe, de los cuales 103 habían adquirido la infección por transmisión vertical y eran menores de 20 años. De estos 103, se incluyeron en el estudio 98 pacientes con DXA disponible.

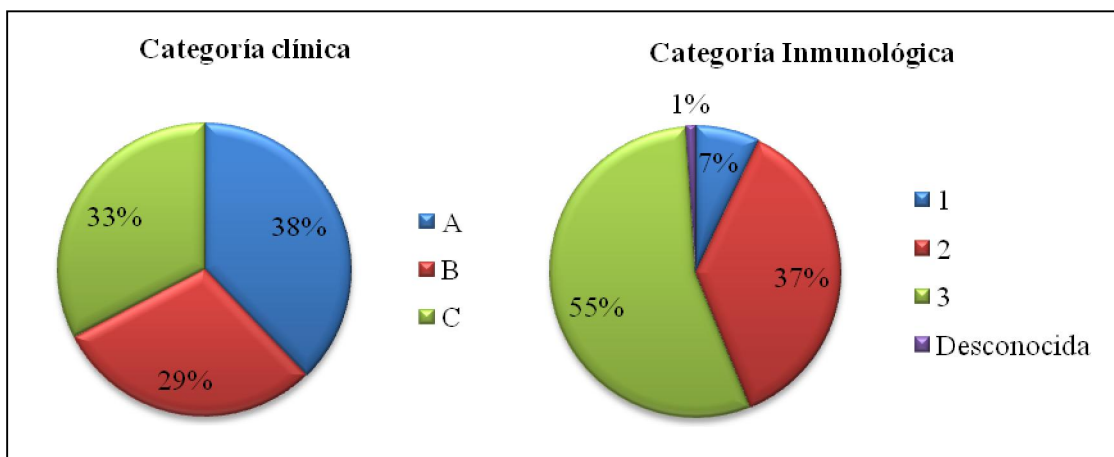
La mediana de edad de los 98 pacientes incluidos en el estudio fue 15,9 años (RIQ: 12,9-17,0), 69 (70,4%) eran mujeres y 70 (71,4%) de etnia blanca. (**Figura 20**)

Figura 20. Etnia y sexo de los 98 pacientes incluidos en el estudio.



Según la clasificación pediátrica de los CDC 1994, 32 pacientes (32,7%) pertenecían a categoría clínica C y 54 (55,1%) a la categoría inmunológica 3 (**Figura 21**). Catorce pacientes (14,3%) tenían algún grado de encefalopatía, precisando dos de ellos silla de ruedas. En el momento de la DXA, la mediana de linfocitos T CD4⁺ fue de 759 cel./mm³ (RIQ: 573-1037) y 79 pacientes (80,6%) tenían CV < 50 copias/mL. Cinco pacientes (5,1%) se encontraban coinfectados por VHC y ninguno por VHB.

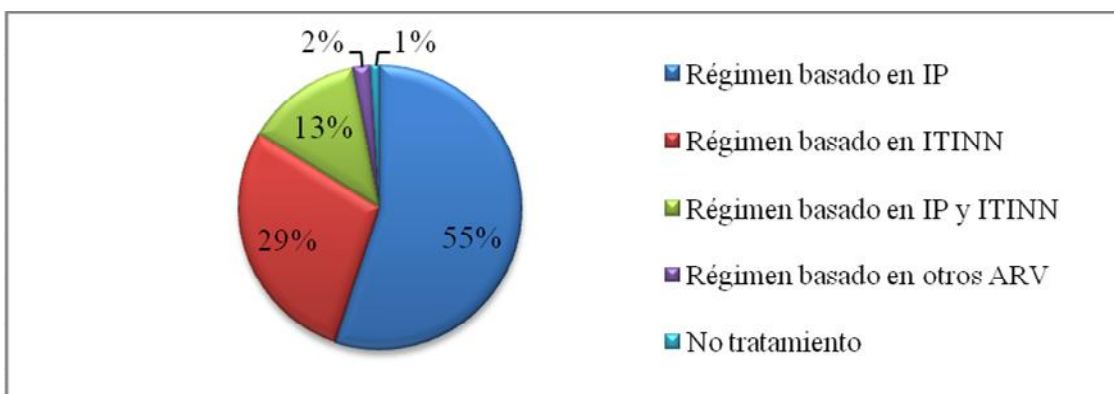
Figura 21. Categorías clínicas e inmunológicas de los 98 pacientes según la clasificación pediátrica de los CDC 1994.



En el momento de la DXA, 76 pacientes (77,6%) habían alcanzado el estadio puberal de Tanner 4 ó 5. El estado nutricional era bueno en la mayoría de los pacientes con una mediana de Z-score de peso, de talla y de IMC de -0,5 (RIQ: -1,2,-0,01), -0,6 (RIQ:-1,5,-0,03) y -0,3 (RIQ: -0,8, 0,24) respectivamente. Cinco pacientes presentaban sobrepeso (Z-score de IMC $> +1$ y $\leq +2$), uno obesidad (Z-score de IMC $> +2$), y ninguno subnutrición (Z-score de IMC < -2). Once pacientes (11,2%) presentaban talla baja para la edad (Z-score de talla < -2). Veintinueve pacientes (29,6%) tenían lipodistrofia clínicamente.

En el momento de la DXA, todos los pacientes menos uno estaban en TAR (97/98, 99%) con una mediana de duración de 12 años (RIQ: 8,8-14,2), no habiendo ningún paciente naive al TAR. El régimen de TAR estaba basado en IP en 54 pacientes (55%), en ITINN en 28 (28,6%), y en ambos IP e ITINN en 13 pacientes (13,3%). (**Figura 22**)

Figura 22. Tratamiento antirretroviral en el momento de la DXA



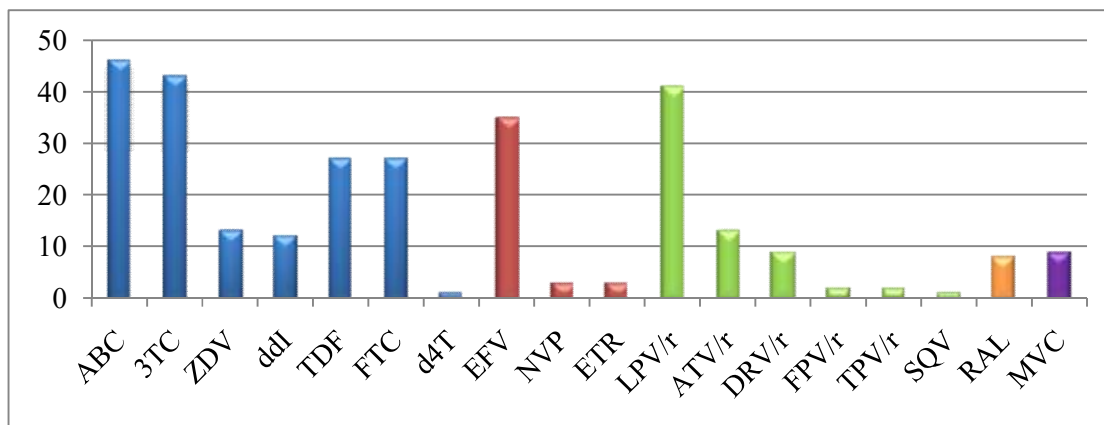
La pauta TAR más frecuente fue abacavir (ABC), lamivudina (3TC) y lopinavir/r (LPV/r) (12/98, 12,2%), seguido de emtricitabina (FTC), tenofovir (TDF) y efavirenz (EFV) (10/98, 10,2%) y ABC, 3TC y EFV (9/98, 9%). La **Tabla 9** muestra las diferentes pautas combinadas de ARV que recibían los pacientes.

Tabla 9. Combinaciones de fármacos antirretrovirales que recibían los pacientes en el momento del estudio.

TAR basado IP	%	TAR basado ITINN	%	Otras combinaciones	%
ABC 3TC LPV/r	12,2	ABC 3TC EFV	9,2	ABC EFV LPV/r	3,1
ZDV 3TC LPV/r	5,1	FTC TDF EFV	10,2	TDF EFV LPV/r	3,1
FTC TDF LPV/r	4,1	ABC FTC EFV	2	d4T EFV LPV/r	1
ddI ABC LPV/r	2	ZDV 3TC EFV	2	ddI EFV LPV/r	1
ddI 3TC LPV/r	2	ddI ABC EFV	2	3TC NVP LPV/r	1
ABC FTC LPV/r	1	ZDV ABC EFV	1	TDF ETR DRV/r	2
ABC ZDV LPV/r	1	ZDV 3TC NVP	1	ZDV ETR DRV/r	1
ZDV ddI LPV/r	1	ddI FTC NVP	1	ZDV 3TC ABC	1
LPV/r	1			ABC FTC RAL	1
ABC 3TC ATV/r	5,1			EFV LPV/r RAL	1
ABC TDF ATV/r	1			ATZ/r RAL	1
ABC ddI ATV/r	1			TDF TPV/r RAL	1
ABC FTC ATV/r	1			FTC TDF DRV/r RAL	1
ddI FTC ATV/r	1			3TC DRV/r RAL MVC	1
FTC TDF ATV	1			3TC DRV/r MVC	1
FTC TDF ATV/r	1			DRV/r RAL MVC	1
ATV/r	1			3TC TPV/r RAL MVC	1
ABC 3TC FPV/r	1			FTC TDF LPV/r MVC	1
FTC TDF FPV/r	1			No tratamiento	1
ddI ABC SQV LPV/r	1				
ABC 3TC DRV/r	1				
FTC TDF DRV/r	1				

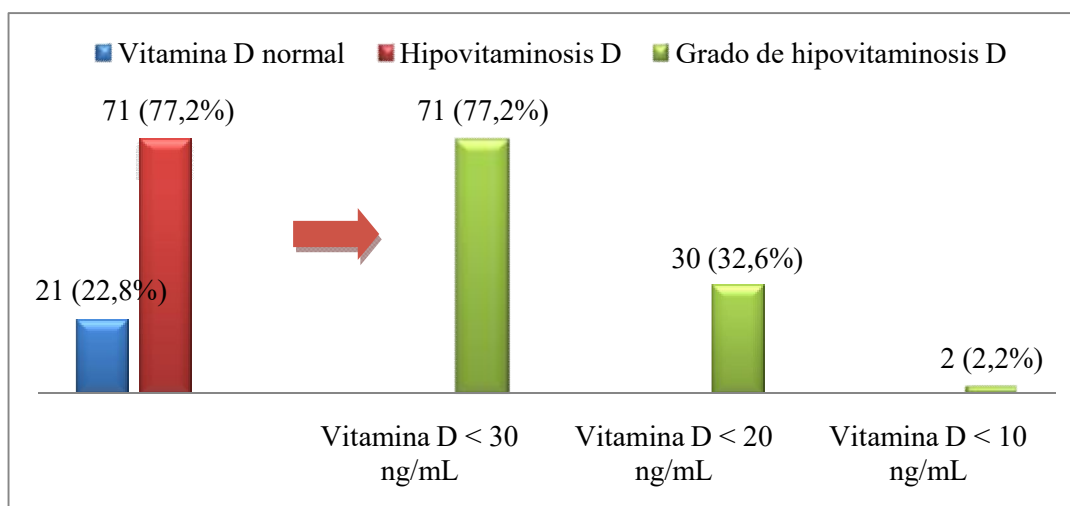
En la **Figura 23** se indican los diferentes ARV que recibían los pacientes en el momento del estudio. Veintisiete pacientes (27,6%) recibían TDF en el momento de la DXA (32,7% lo habían recibido previamente) con una mediana de exposición de 2,6 años (RIQ: 1,4-3,7). En lo referente a los nuevos ARV, 5 pacientes recibían Maraviroc (5,1%), 8 Raltegravir (8,2%), 9 Darunavir (9,2%), 3 Etravirina (3%) y ninguno Rilpivirina.

Figura 23. Los diferentes antirretrovirales que recibían los pacientes en el momento de la DXA.



Respecto al metabolismo óseo, la mediana de vitamina D fue 24 ng/mL (RIQ: 16,6-28,7); 71 pacientes (77,2%) tenían insuficiencia de vitamina D (< 30 ng/mL) y 30 pacientes (32,6%) deficiencia (< 20 ng/mL). (**Figura 24**) El 66,3% de las determinaciones de vitamina D se realizaron durante los meses de verano u otoño. Excepto dos pacientes, ninguno estaba recibiendo vitamina D en el momento de la determinación de vitamina D. La deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL) se asoció al uso de ITINN (56,7% vs. 33,9%, p=0,037), aunque cuando se analizó dentro de los ITINN específicamente el uso de EFV no se encontró relación estadísticamente significativa (46,7% vs. 29%, p=0,096). No se observó asociación de deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL) ni con el sexo, etnia, Z-score de IMC, estadio CDC, recuento de linfocitos T CD4⁺, CV, tiempo de TAR y uso de IP.

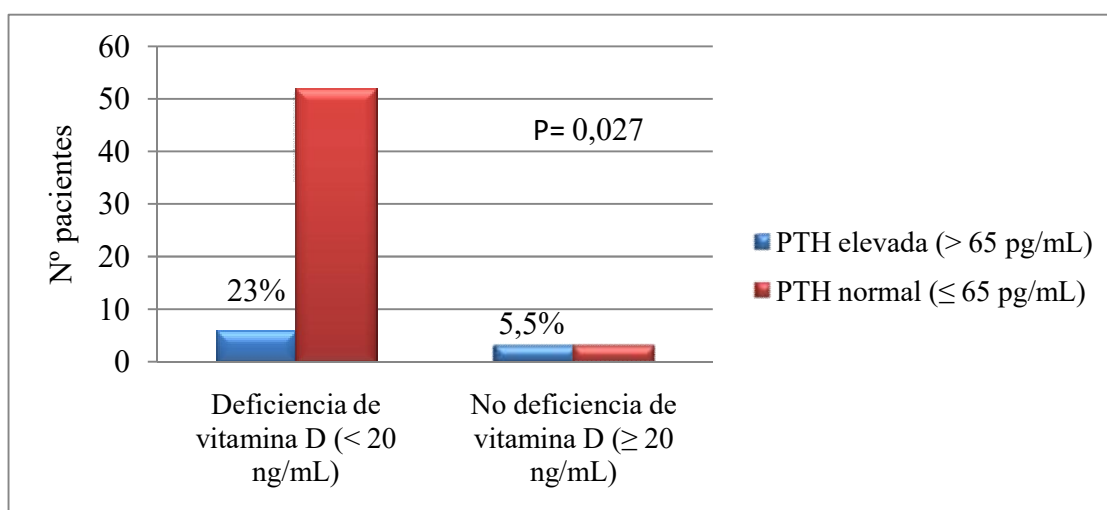
Figura 24. Número de pacientes con hipovitaminosis D en el momento del estudio.



Se obtuvieron datos sobre la ingesta estimada de vitamina D a través de encuesta dietética en 66 de los 98 pacientes. La mediana de ingesta diaria fue de 217 UI (RIQ: 139-344) y el 83% reportó una ingesta de vitamina D < 400 UI/día. Los niveles de vitamina D se correlacionaron positivamente con la ingesta de vitamina D diaria estimada ($r= +0,251$, $p=0,042$).

Sobre PTH solo se disponía de datos de 81 de los 98 pacientes incluidos en el estudio. La mediana de PTH fue de 40,9 pg/mL (RIQ: 29,5-52,2) y 9 de ellos (11%) presentaron niveles elevados de PTH (> 65 pg/mL). Los niveles de PTH se correlacionaron negativamente con los niveles de vitamina D ($r= -0,319$, $p=0,004$) y todos los pacientes con PTH > 65 pg/mL tenían vitamina D < 25 ng/mL. De hecho, los pacientes con deficiencia de vitamina D (< 20 ng/ml) tuvieron niveles mayores de PTH (48 pg/mL (RIQ: 37-61 vs 37 (RIQ: 28-47), $p= 0,023$) y mayor frecuencia de PTH elevada (> 65 pg/mL) (23% vs. 5,5%, $p=0,027$) que los pacientes sin deficiencia de vitamina D. (**Figura 25**) De los pacientes con PTH elevada, el 44,4% recibían TDF. No se observó asociación significativa entre PTH elevada y exposición a TDF en el momento de DXA ($p=0,228$) o exposición previa a TDF ($p=0,447$). La mediana de fosfatasa alcalina sérica fue de 119 UI/L (RIQ: 81-245), encontrándose dentro del rango de normalidad en todos los casos.

Figura 25. Prevalencia de PTH elevada (> 65 pg/mL) en los pacientes con deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL).



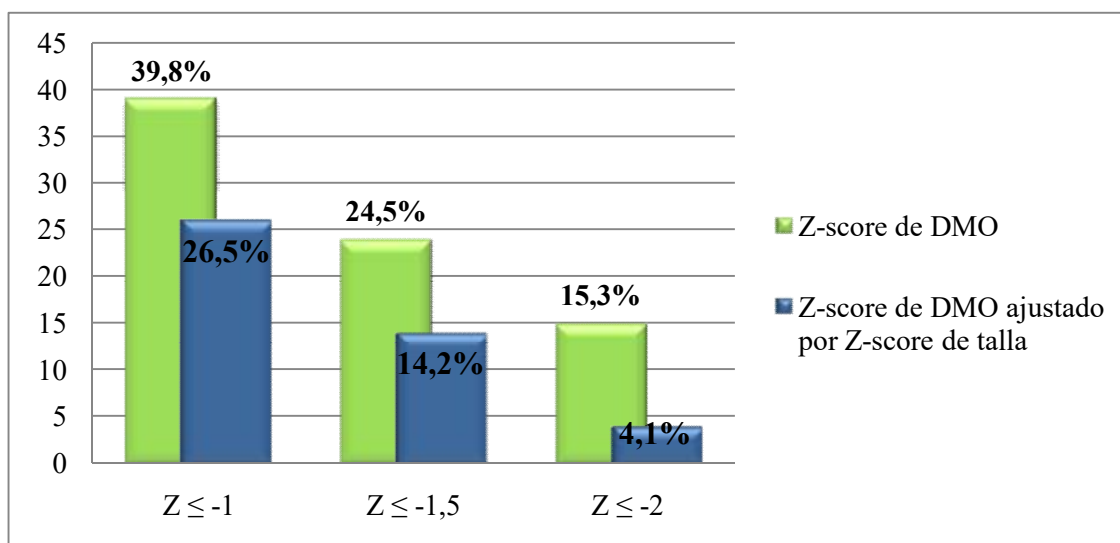
5.1.2. Prevalencia de Densidad Mineral Ósea disminuida

La mayoría de los 98 pacientes (73,5%) fueron evaluados con densitómetros tipo Hologic. La mediana de DMO a nivel lumbar medida por DXA fue de 0,892 g/m² (RIQ: 0,747-1,017).

Sin ajustar por la talla, la mediana de ZDMO a nivel lumbar fue -0,8 (RIQ: -1,4 - 0,1). La proporción de pacientes con ZDMO $\leq -1,0$, $\leq -1,5$ y $\leq -2,0$ fue de 39,8% (39/98), 24,5% (24/98) y 15,3% (15/98) respectivamente. (Figura 26)

Realizando el ajuste de DMO por talla, la mediana de ZDMOtalla a nivel lumbar fue de -0,3 (RIQ: -1,0 - 0,5). La proporción de pacientes con ZDMOtalla $\leq -1,0$, $\leq -1,5$ y $\leq -2,0$ fue de 26,5% (26/98), 14,2% (14/98) y 4,1% (4/98) respectivamente. (Figura 26)

Figura 26. Proporción de pacientes con Z-score de DMO ≤ -1 , $\leq -1,5$ y ≤ -2 (categorías no exclusivas mutuamente) antes y después del ajuste por la talla.



Excluyendo los 14 pacientes con encefalopatía, la proporción de pacientes con ZDMO $\leq -1,0$, $\leq -1,5$ y $\leq -2,0$ en este grupo de pacientes sin encefalopatía fue de 37% (31/84), 20,2% (17/84) y 10,7% (9/84), respectivamente. Realizando el ajuste de DMO por la talla, la proporción de pacientes con ZDMOtalla $\leq -1,0$, $\leq -1,5$ y $\leq -2,0$ en este grupo de pacientes sin encefalopatía fue de 23,8% (20/84), 10,7% (9/84) y 3,6% (3/84) respectivamente.

5.1.3. Relación de Densidad Mineral Ósea y variables clínicas

5.1.3.1. Análisis de Densidad Mineral Ósea sin ajustar por la talla

Se llevó a cabo un estudio comparativo entre los 15 pacientes con DMO baja ($Z_{DMO} \leq -2$) con los 83 pacientes con DMO normal ($Z_{DMO} > -2$). Las características clínicas de ambos grupos se muestran en la **Tabla 10**.

No hubo diferencias significativas entre los dos grupos, DMO baja o DMO normal, en relación a la edad, sexo, etnia y estadio puberal de Tanner. Los pacientes con DMO baja tenían menor Z-score de peso (-1,5 (RIQ: -1,7, -0,4) vs. -0,5 (RIQ: -1,0 - 0,0), $p=0,001$) y menor Z-score de talla (-1,4 (RIQ: -1,9, -1,2) vs. -0,5 (-1,4 - 0,0), $p<0,001$) que aquéllos con DMO normal. Además, presentaron con mayor frecuencia de encefalopatía (40% vs. 9,6%, $p=0,007$). No se detectó asociación significativa de DMO baja con la categoría clínica CDC C (53,3% vs. 28,9%, $p=0,078$), pero sí con el antecedente de inmunodepresión, ya que los pacientes con DMO baja pertenecían con mayor frecuencia a estadio inmunológico CDC 3 (86,7% vs. 50%, $p=0,009$), tenían menor nadir de CD4 (176 cel./mm³ (RIQ: 45-460) vs. 361 (RIQ: 206-5729), $p=0,033$) y mayor tiempo de inmunodepresión grave (1,3 meses con CD4<200 cel./mm³ (RIQ: 0,0-7,8) vs. 0 (RIQ: 0-0), $p=0,001$) comparado con los pacientes con DMO normal. No se observaron diferencias en el recuento de linfocitos T CD4⁺, cociente CD4/CD8 o CV en el momento de la DXA ni en el tiempo acumulado de supresión viral. Los pacientes con DMO baja no realizaban ejercicio físico con mayor frecuencia que aquellos con DMO normal (44,6% vs. 12,3%, $p=0,036$).

En las **Figuras 27 y 28** se muestra la comparación entre los 15 pacientes con DMO baja ($Z_{DMO} \leq -2$) y los 83 pacientes con DMO normal ($Z_{DMO} > -2$) respecto a variables demográficas y antropométricas.

Tabla 10. Características de los pacientes con DMO baja (Z-score de DMO ≤ -2) comparados con aquellos con DMO normal (Z-score de DMO > -2) sin realizar ajuste por talla.

	ZDMO ≤ -2 (n=15)	ZDMO > -2 (n=83)	P
Datos Demográficos			
Edad	16,0 (14,0-17,0)	15,9 (12,7-17,1)	0,618
Sexo Femenino	7 (46,7)	62 (74,7)	0,061
Etnia			
Negro o mulato	1 (6,7)	14 (16,9)	0,455
Blanco	13 (86,7)	57 (68,7)	0,219
Otras	1 (6,7)	11 (13,4)	0,686
Estadio puberal de Tanner 4-5	13 (86,7)	63 (75,9)	0,509
Factores relacionados con VIH			
Categoría clínica CDC C	8 (53,3)	24 (28,9)	0,078
Categoría inmunológica CDC 3	13 (86,7)	41 (50)	0,009*
Encefalopatía	6 (40)	8 (9,6)	0,007*
Lipodistrofia	3 (20)	26 (31,3)	0,542
Coinfección por VHC	0 (0)	5 (6)	1,000
CD4 (cel./mm ³)	668 (528-1071)	774 (583-1026)	0,534
Cociente CD4/CD8	0,7 (0,7-1,1)	0,9 (0,7-1,2)	0,166
Cociente CD4/CD8 < 1	11 (73,3)	42 (50,6)	0,104
CV (cp/mL)	20 (20-300)	20 (20-50)	0,505
CV < 50 cp/mL	12 (80)	67 (80,3)	1,000
Tiempo de supresión viral (años)	6.5 (4,4-8,1)	6.2 (2,7-8,3)	0,607
Nadir de CD4 (cel./mm ³)	176 (45-460)	361 (206-572)	0,033*
Meses con CD4 < 200 cel./mm ³	1,3 (0,0-7,8)	0,0 (0,0-0,0)	0,001*
Edad de inicio de TAR (años)	1,4 (0,6-5,8)	1,4 (0,5-4,1)	0,528
Edad de inicio de TARGA (años)	4,2 (1,1-6,4)	3,9 (1,7-6,6)	0,878
Régimen basado en ITINN	2 (13,3)	26 (31,3)	0,219
Régimen basado en IP	11 (73,3)	43 (51,8)	0,123
Régimen basado en ITINN e IP	2 (13,3)	11 (13,3)	1,000
IP en el momento de DXA	13 (86,7)	55 (66,3)	0,139
IP /r en momento de DXA	13 (86,7)	53 (63,9)	0,133
TDF en el momento de DXA	5 (33,3)	22 (26,5)	0,549
Exposición acumulada a ARV (años)	12,1 (9,9-14,7)	12,0 (8,7-14,1)	0,564
Exposición acumulada a IP (años)	10,0 (7,6-13,4)	7,9 (3,3-10,7)	0,024*
Exposición acumulada a ITINN (años)	1,5 (0,1-3,4)	3,3 (0,1-7,1)	0,269
Exposición acumulada a TDF (años)	0,0 (0,0-1,4)	0,0 (0,0-1,5)	0,958
Exposición previa a IP	15 (100)	72 (86,7)	0,206
Exposición previa a IP /r	15 (100)	63 (75,9)	0,036*
Exposición previa a IDV	1 (6,7)	7 (8,4)	1,000
Exposición previa a TDF	5 (33,3)	27 (32,5)	1,000
Factores de riesgo tradicionales			
Z-score de Peso	-1.5 (-1.7, -0.4)	-0.5 (-1.0- 0.0)	0,001*
Z-score de Talla	-1.4 (-1.9, -1.2)	-0.5 (-1.4- 0.0)	<0,001*
Z-score de IMC	-1.0 (-1.4-0.1)	-0.3 (-0.7-0.3)	0,059
Tabaquismo (n=79)	2 (20)	14 (20,3)	1,000
Ejercicio físico intenso (n=66)	3 (33,3)	33 (57,9)	0,280
No ejercicio físico (n=66)	4 (44,6)	7 (12,3)	0,036*
Ingesta vitamina D (UI/día) (n=66)	205 (186-217)	228 (139-346)	0,950
Vitamina D (ng/mL) (n=92)	23.0 (16.4-32.2)	24.0 (16.6-28.7)	0,921
Vitamina D < 20ng/mL (n=92)	5 (41,7)	25 (31,2)	0,518
PTH (pg/mL) (n=81)	53 (35-70)	39 (27-50)	0,052
PTH > 65 pg/mL (n=81)	3 (30)	6 (8,5)	0,077
Fosfatasa alcalina sérica (UI/L) (n=92)	133 (87-257)	119 (80-230)	0,706

Figura 27. Comparación entre los 15 pacientes con DMO baja ($Z_{DMO} \leq -2$) y los 83 pacientes con DMO normal ($Z_{DMO} > -2$) respecto a variables demográficas y antropométricas.

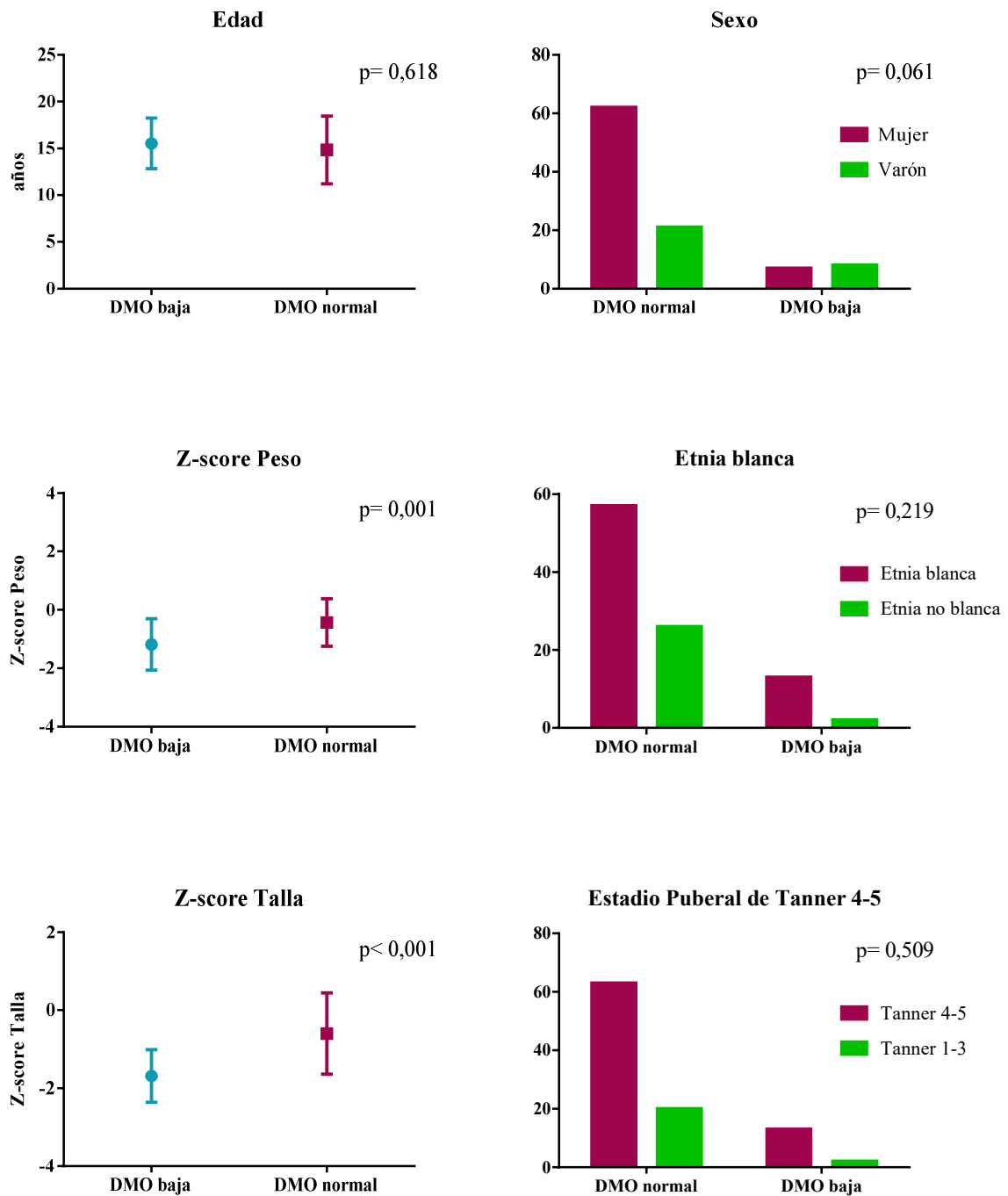
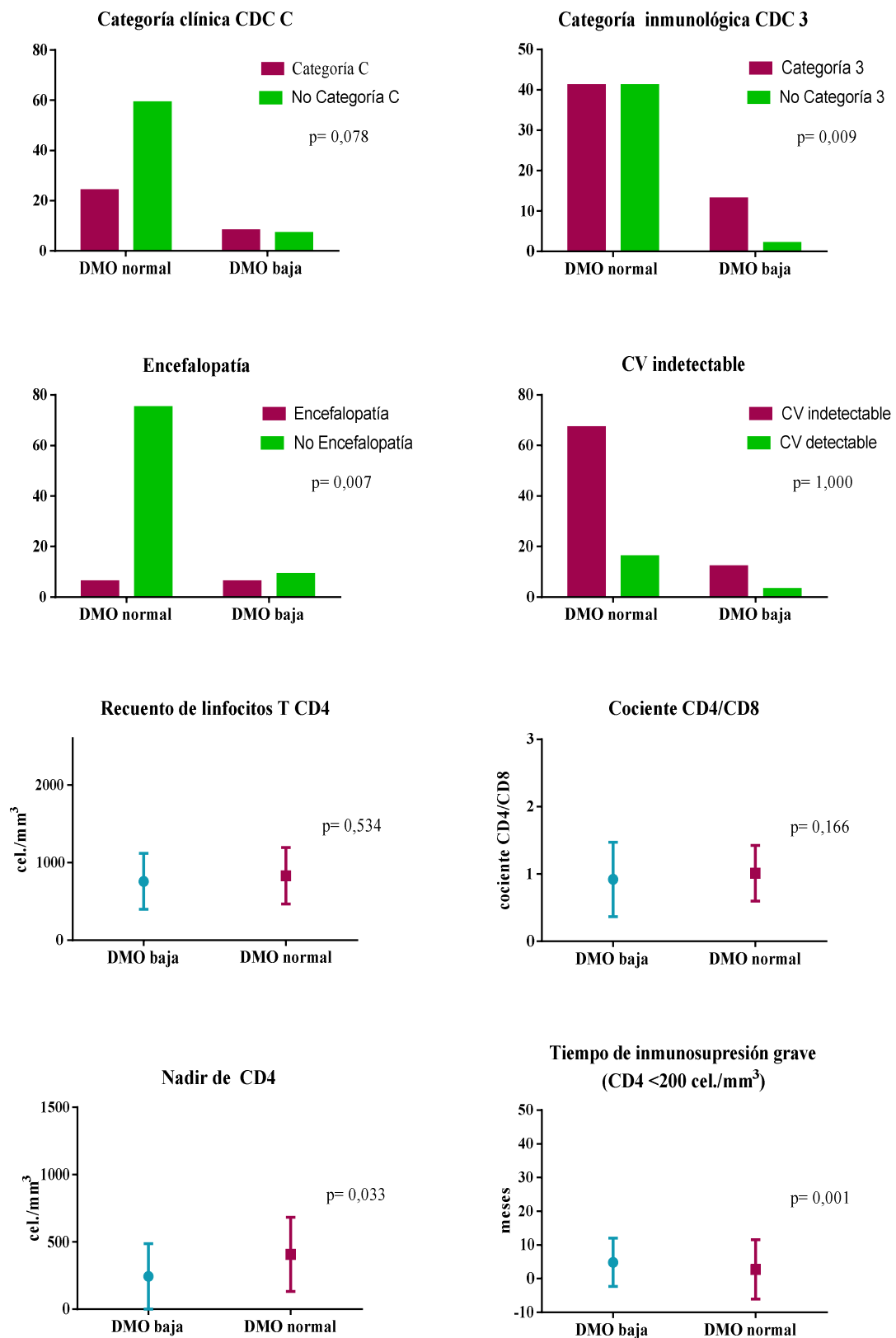


Figura 28. Comparación entre los 15 pacientes con DMO baja ($Z_{DMO} \leq -2$) y los 83 con DMO normal ($Z_{DMO} > -2$) respecto a variables relativas a la infección por VIH.



Respecto al TAR, los pacientes con DMO baja tenían mayor exposición acumulada a IP [10 años (RIQ: 7,6-13,4) vs. 7,9 (RIQ: 3,3-10,7), $p=0,024$], aunque no se observó asociación significativa de DMO baja con el uso de IP en el momento de DXA ni con la exposición previa a IP. Analizando los IP potenciados (IP/r), DMO baja se asoció con la exposición previa de IP/r (100% vs. 35,9%, $p=0,036$), pero no con el uso actual de IP/r en el momento de DXA.

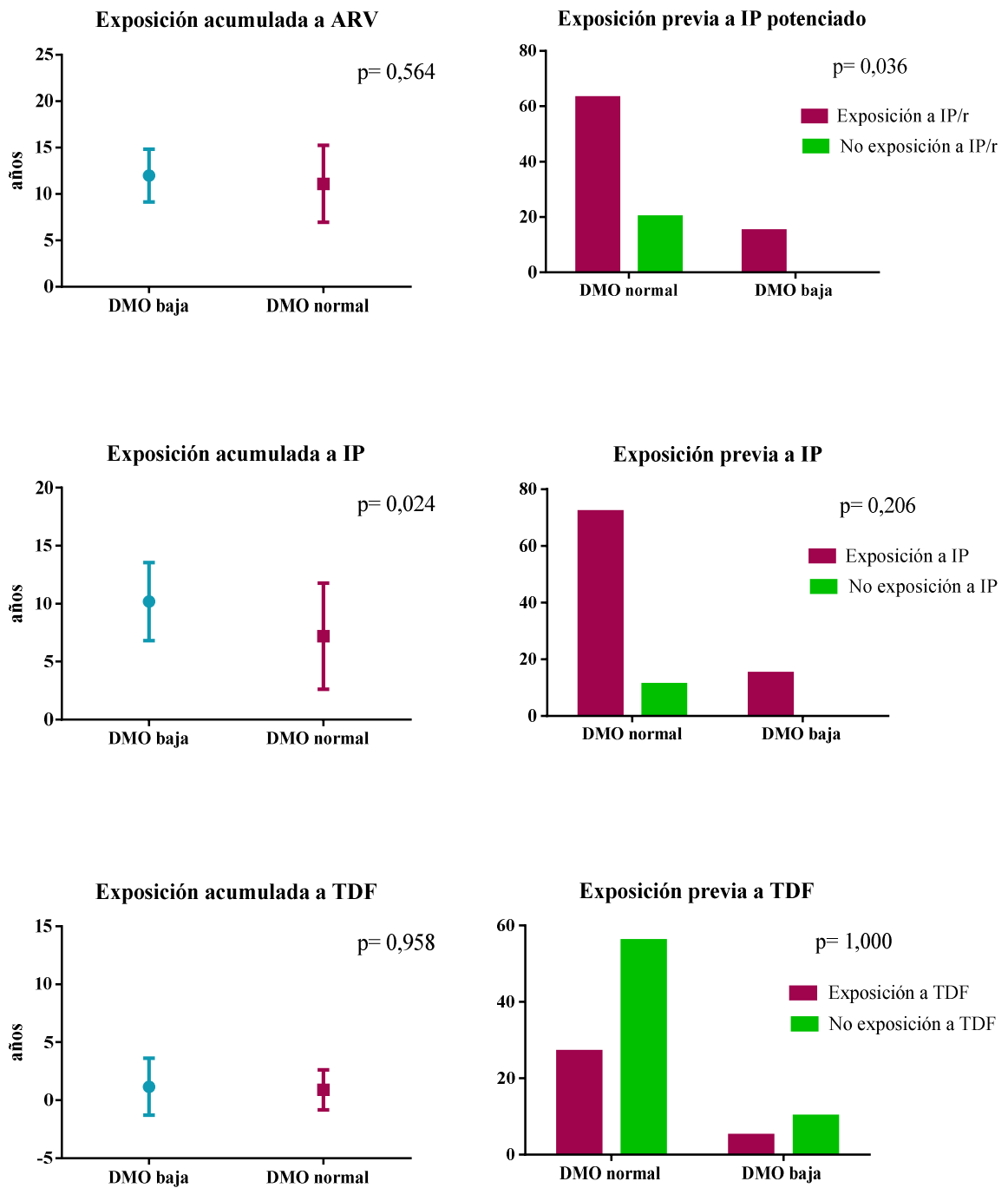
No hubo diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes en relación a la exposición acumulada a ARV globalmente, edad de inicio de TAR, edad de inicio de TARGA, o pauta de TAR en el momento de DXA basada en IP o ITINN o ambos.

Se analizó específicamente el efecto de TDF, no hallándose asociación significativa de DMO baja con el uso de TDF en momento de DXA ni con la exposición previa ni con el tiempo de exposición acumulado.

Acerca de otros ARV, tampoco se observó asociación con la exposición previa a IDV (no recibiendo en el momento de la DXA ningún paciente) ni con el uso en el momento de la DXA de MVC, RAL o DRV o 3TC.

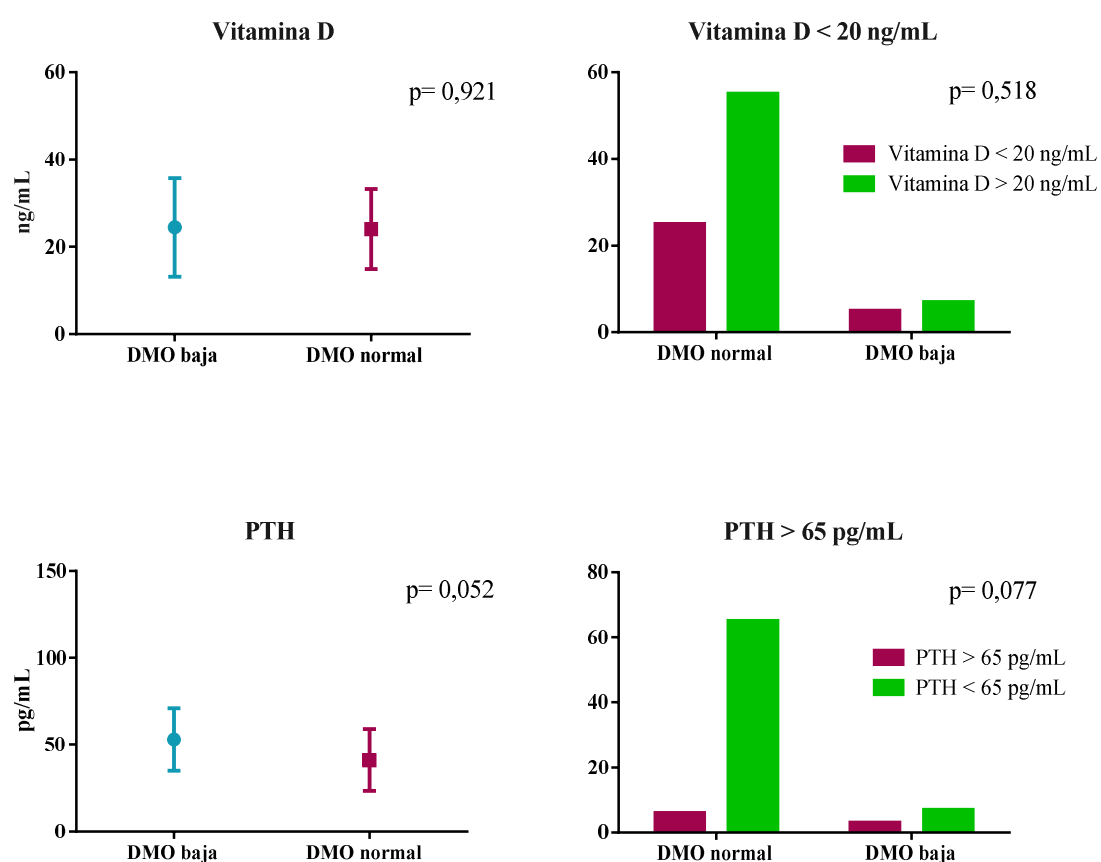
En la **Figura 29** se muestra la comparación entre los 15 pacientes con DMO baja ($Z_{DMO} \leq -2$) y los 83 pacientes con DMO normal ($Z_{DMO} > -2$) respecto al TAR.

Figura 29. Comparación entre los 15 pacientes con DMO baja ($Z_{DMO} \leq -2$) y los 83 pacientes con DMO normal ($Z_{DMO} > -2$) respecto al tratamiento antirretroviral.



Referente al metabolismo óseo, los pacientes con DMO baja presentaban una tendencia a niveles mayores de PTH (53 pg/mL (RIQ 35-70) vs. 39 (RIQ 27-50), $p=0,052$) y mayor frecuencia de PTH elevada (30% vs. 8,5%, $p=0,077$) sin alcanzar la significación estadística en comparación con los pacientes con DMO normal (**Figura 30**). No hubo diferencias en la ingesta de vitamina D ni en los niveles de vitamina D ni fosfatasa alcalina sérica.

Figura 30. Comparación entre los 15 pacientes con DMO baja ($ZDMO \leq -2$) y los 83 pacientes con DMO normal ($ZDMO > -2$) respecto a vitamina D y niveles de PTH.



Las principales correlaciones entre ZDMO y las variables clínicas se muestran en las **Figuras 31-35**. ZDMO se correlacionó positivamente con Z-score de peso ($r= +0,491$, $p<0,001$), Z-score de talla ($r= +0,461$, $p<0,001$) y Z-score de IMC ($r= +0,328$, $p=0,001$); cociente CD4/CD8 ($r= +0,219$, $p=0,031$) y nadir de CD4 ($r= +0,299$, $p=0,003$); e inversamente con tiempo de inmunosupresión grave ($r= -0,444$, $p<0,001$), exposición acumulada a ARV ($r= -0,245$, $p=0,015$) y exposición acumulada a IP ($r= -0,307$, $p=0,002$). No se encontraron otras correlaciones significativas.

Figura 31. Correlaciones de Z-score de DMO (ZDMO) y Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) con variables demográficas y antropométricas. Los gráficos a la izquierda representan las correlaciones de ZDMO y los gráficos a la derecha las correlaciones de ZDMOtalla. R es el coeficiente de correlación de Pearson.

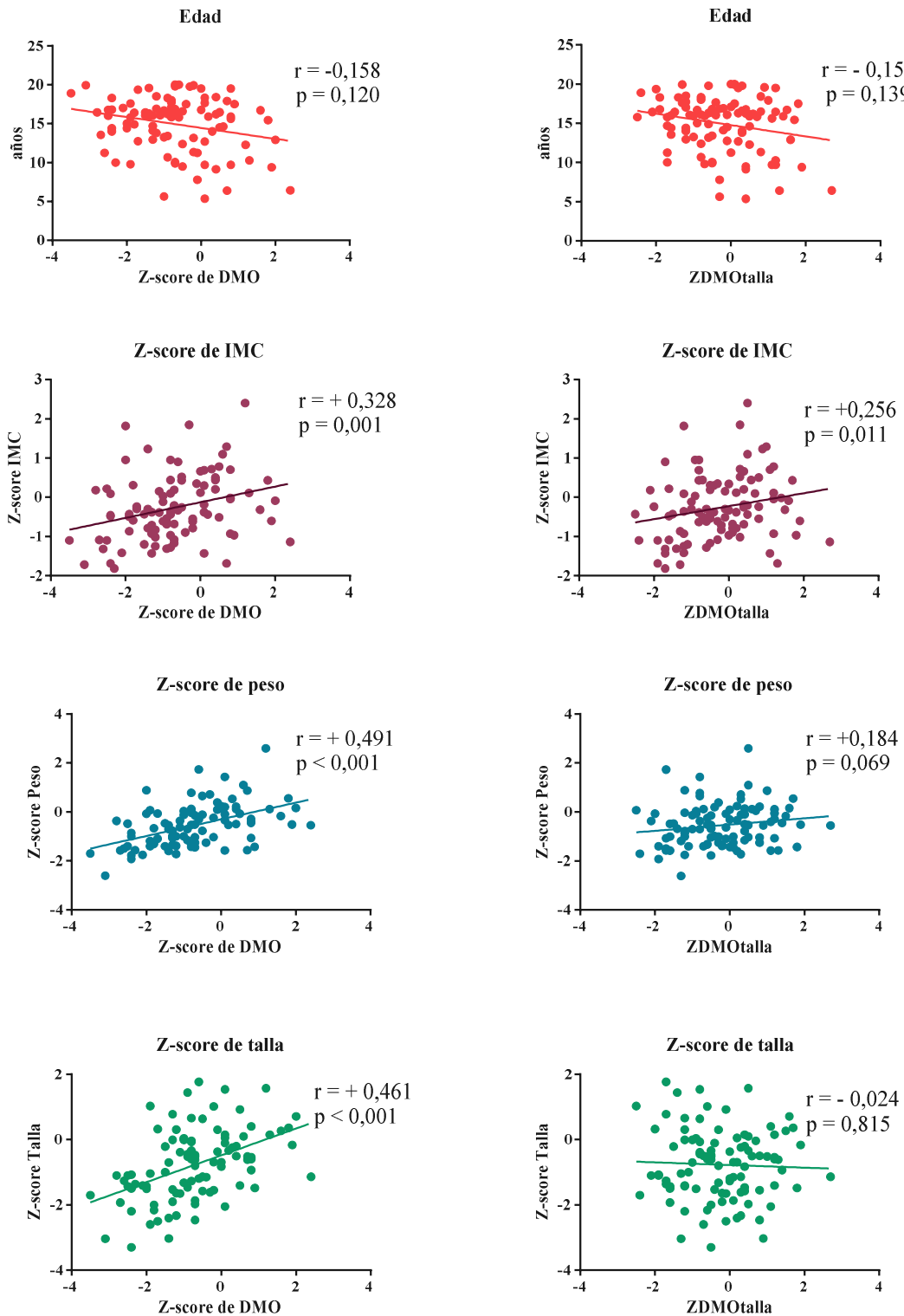


Figura 32. Correlaciones de Z-score de DMO (ZDMO) y Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) con el recuento de linfocitos T CD4⁺, cociente CD4/CD8 y CV en el momento de la DXA. Los gráficos a la izquierda representan las correlaciones de ZDMO y los gráficos a la derecha las correlaciones de ZDMOtalla. R es el coeficiente de correlación de Spearman.

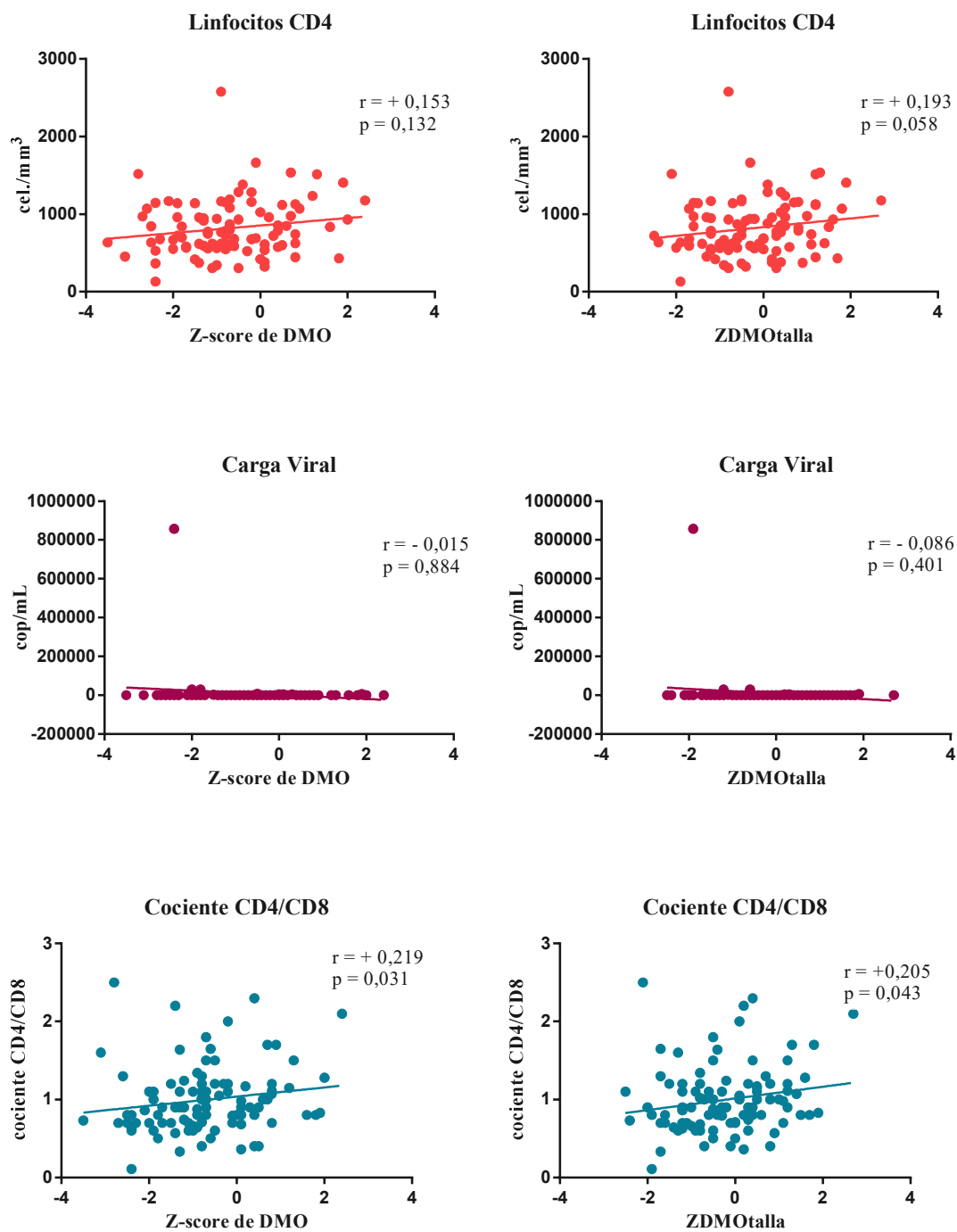


Figura 33. Correlaciones de Z-score de DMO (ZDMO) y Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) con las variables de nadir de CD4, tiempo de inmunosupresión grave y tiempo de supresión viral. Los gráficos a la izquierda representan las correlaciones de ZDMO y los gráficos a la derecha las correlaciones de ZDMOtalla. R representa el coeficiente de correlación de Spearman.

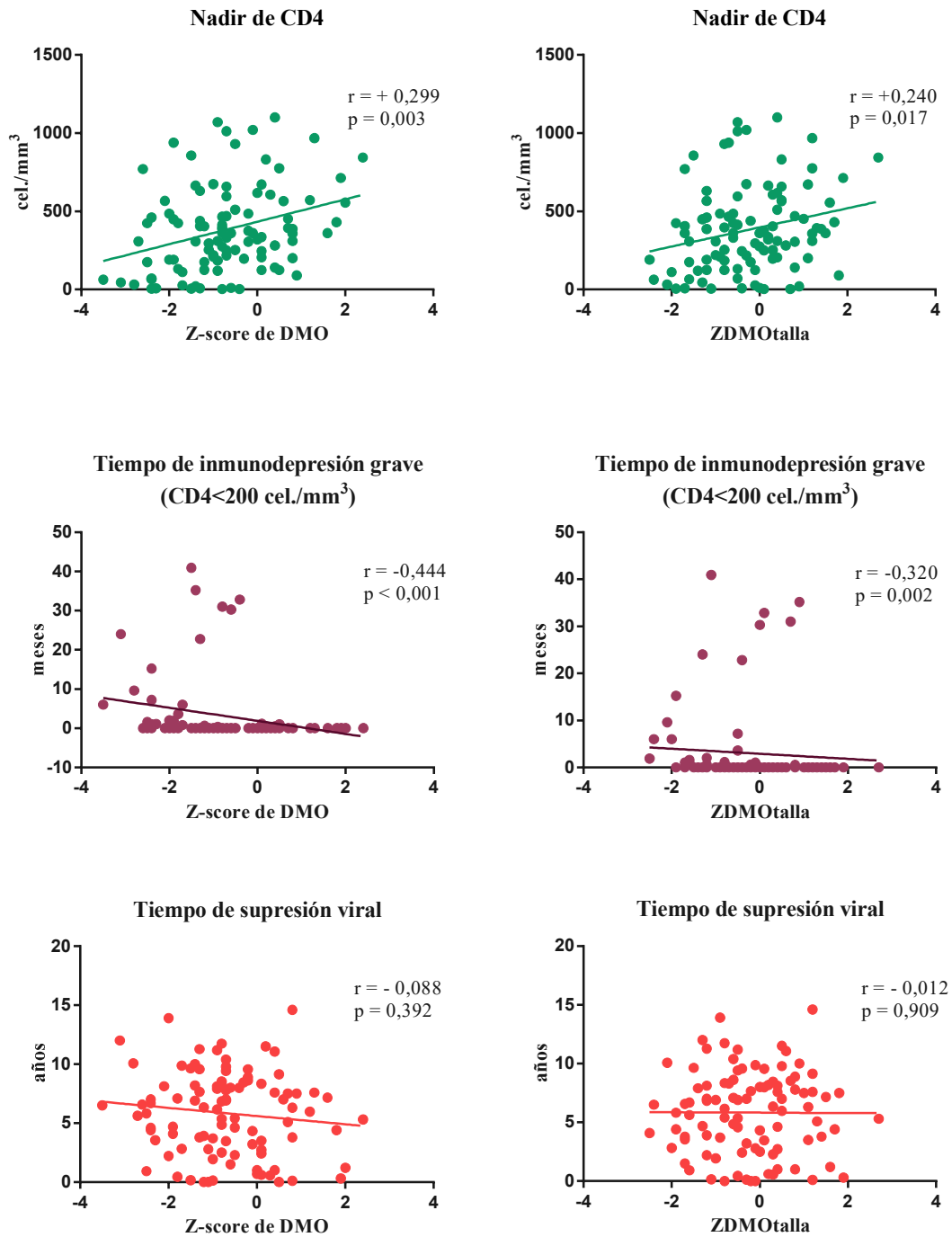


Figura 34. Correlaciones de Z-score de DMO (ZDMO) y Z-score de DMO ajustado por talla (ZDMOtalla) con el tratamiento antirretroviral. Los gráficos a la izquierda representan las correlaciones de ZDMO y los gráficos a la derecha las correlaciones de ZDMOtalla. R representa el coeficiente de correlación de Spearman.

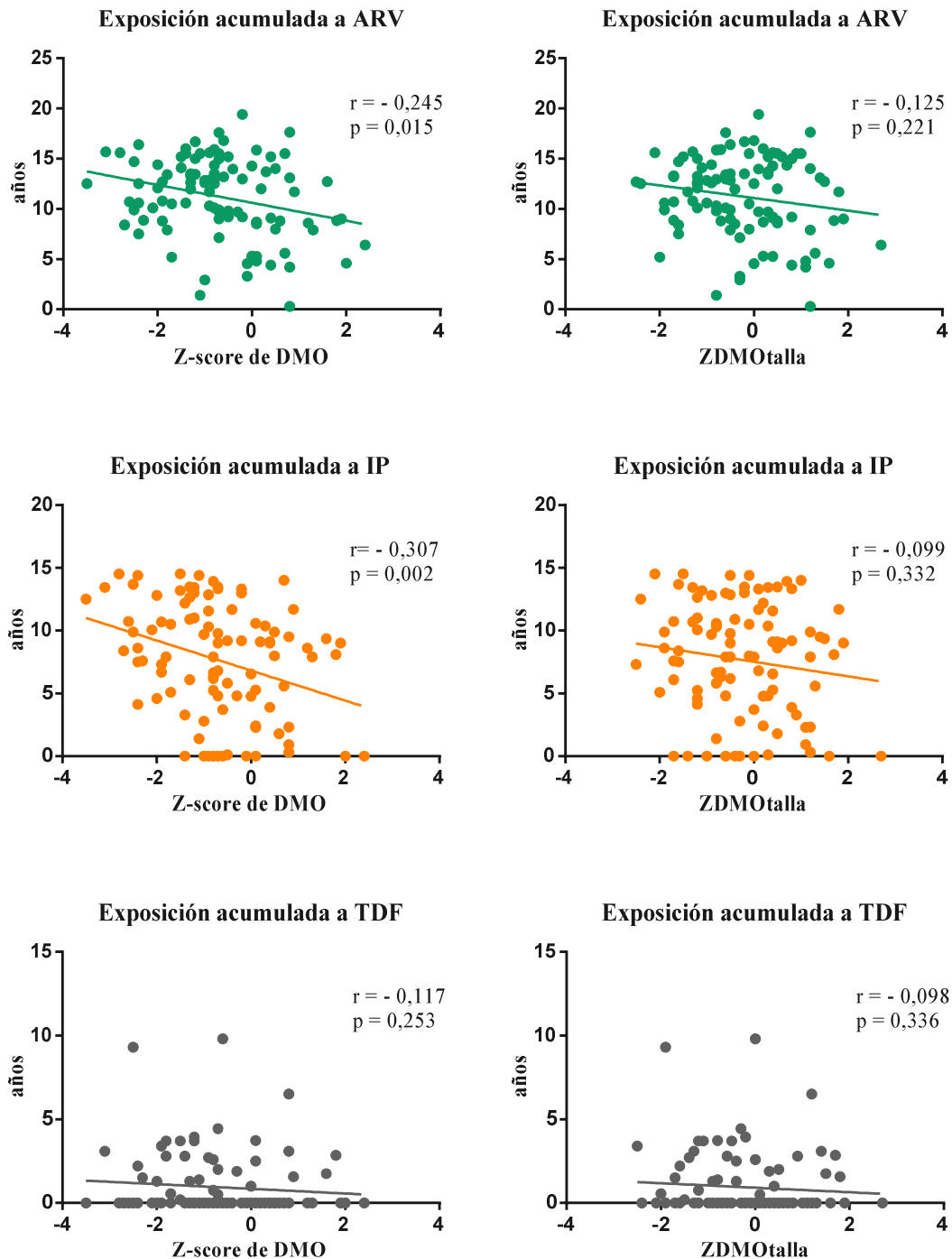
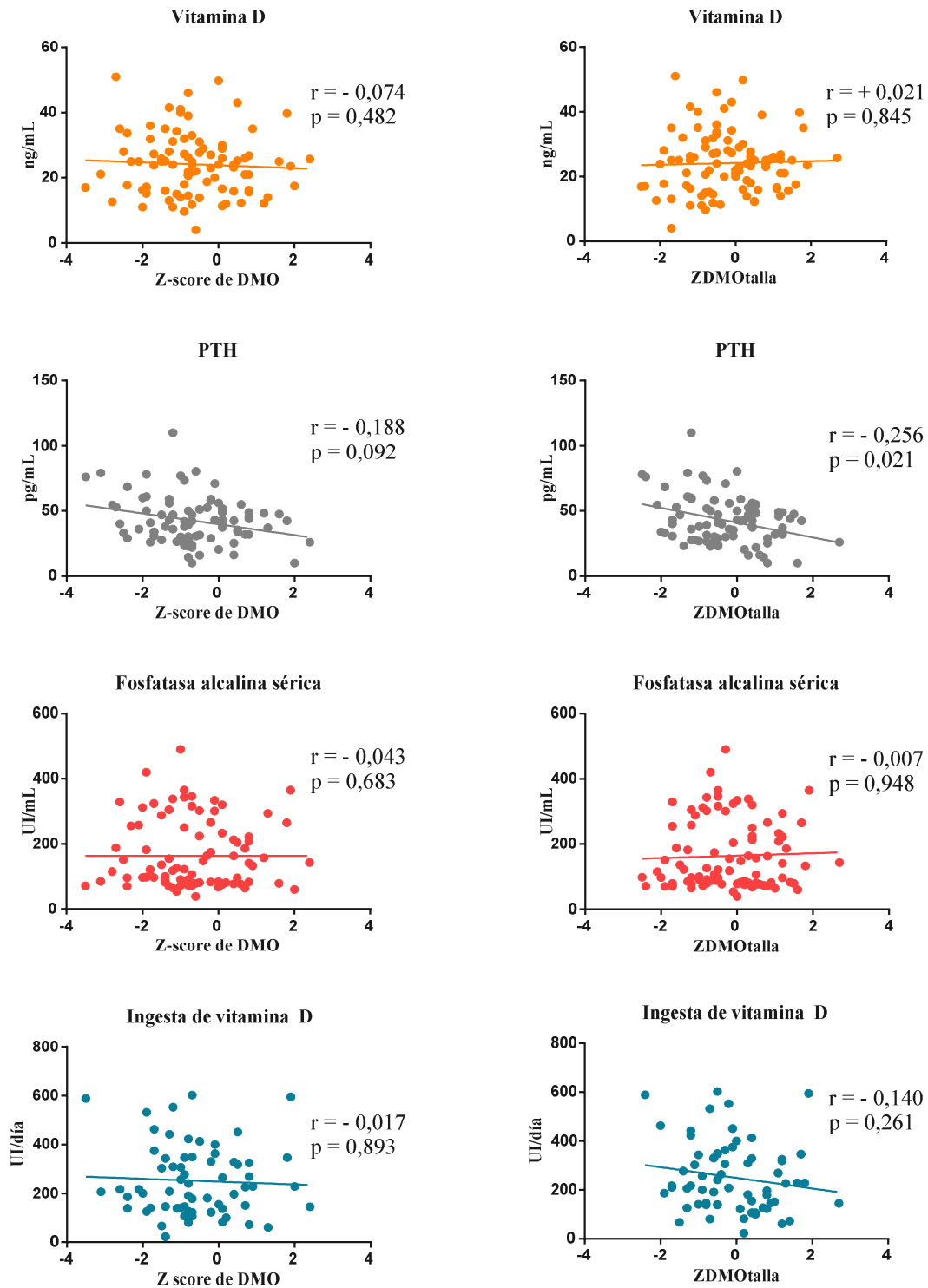


Figura 35. Correlaciones de Z-score de DMO (ZDMO) y Z-score de DMO ajustado por talla (ZDMOtalla) con variables del metabolismo óseo (vitamina D, PTH y fosfatasa alcalina sérica, ingesta de vitamina D). Los gráficos a la izquierda representan las correlaciones de ZDMO y los gráficos a la derecha las correlaciones de ZDMOtalla. R representa el coeficiente de correlación de Spearman.

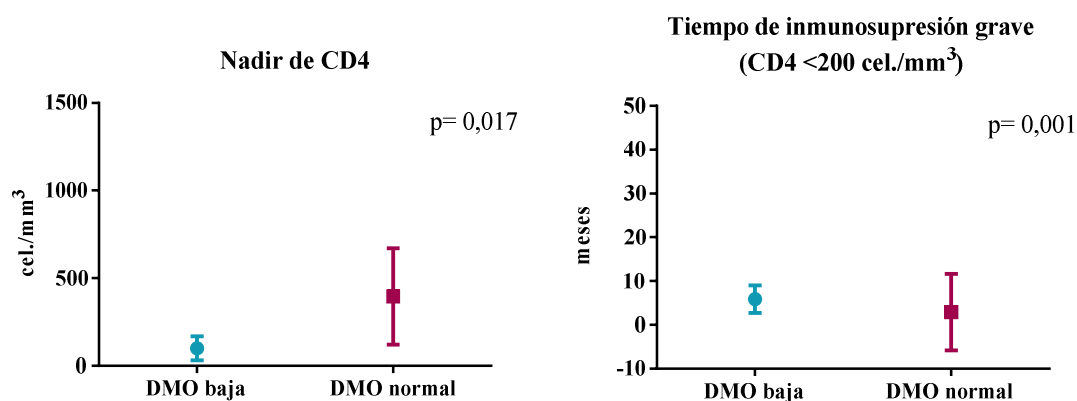


5.1.3.2. Análisis de Densidad Mineral Ósea ajustada por la talla

Se compararon los 4 pacientes con DMO baja ($ZDMOtalla \leq -2$) con los 94 pacientes con DMO normal ($ZDMOtalla > -2$). Las características clínicas de ambos grupos se muestran en la **Tabla 11**.

Los pacientes con DMO baja ($ZDMOtalla \leq -2$) tenían menor nadir de CD4 (87 cel./mm³ (RIQ: 39-170) vs. 360 (RIQ: 195-565), $p=0,017$) y mayor tiempo de inmunosupresión grave ($CD4 < 200$ cel./mm³) (6 meses (2,9-8,7) vs. 0 (0-0), $p=0,001$) en comparación con los pacientes con DMO normal. (**Figura 36**) No se observaron otras asociaciones significativas en relación a la edad, sexo, etnia, estadio de puberal de Tanner, índices antropométricos, estadio clínico e inmunológico de los CDC, recuento de linfocitos T CD4⁺, CV o cociente CD4/CD8 en el momento de DXA, presencia de lipodistrofia o encefalopatía, régimen de TAR, ejercicio físico, tabaquismo, y niveles de vitamina D, PTH y fosfatasa alcalina.

Figura 36. Comparación entre los 4 pacientes con DMO baja ($ZDMOtalla \leq -2$) y los 94 pacientes con DMO normal ($ZDMOtalla > -2$) respecto a nadir de CD4 y tiempo de inmunosupresión grave.



Las correlaciones de $ZDMOtalla$ con las variables independientes se muestran en las Figuras 31-35. Se encontró correlación positiva de $ZDMOtalla$ con Z-score de IMC ($r = +0,256$, $p=0,011$), cociente CD4/CD8 ($r = +0,205$, $p=0,043$) y nadir de CD4 ($r = +0,240$, $p=0,017$); y correlación negativa con el tiempo de inmunosupresión grave ($r = -0,320$, $p=0,002$) y niveles de PTH ($r = -0,256$, $p=0,021$). No se detectaron otras correlaciones significativas.

Tabla 11. Características de los 4 pacientes con DMO baja comparados con los 94 pacientes con DMO normal tras ajuste de talla.

	ZDMOtalla ≤ -2 (n= 4)	ZDMOtalla > -2 (n=94)	P
Datos Demográficos			
Edad	17,6 (15,9-19,2)	15,9 (12,8-16,9)	0,134
Sexo Femenino	3 (75)	66 (70,2)	1,000
Etnia			
Negro o mulato	0 (0)	15 (16)	1,000
Blanco/Caucásico	4 (100)	66 (70,2)	0,576
Otras	0 (0)	12 (12,9)	1,000
Estadio puberal de Tanner 4-5	4 (100)	72 (76,6)	0,572
Factores relacionados con VIH			
Categoría clínica CDC C	2 (50)	30 (31,9)	0,595
Categoría inmunológica CDC 3	4 (100)	50 (53,6)	0,127
Encefalopatía	1 (25)	13 (13,8)	0,466
Lipodistrofia	0 (0)	29 (30,9)	0,316
Coinfección por VHC	0 (0)	5 (5,3)	1,000
CD4 (cels/mm ³)	678 (584-1319)	771 (573-1037)	0,943
Cociente CD4/CD8	1,0 (0,7-2,1)	0,9 (0,7-1,2)	0,413
CocienteCD4/CD8 < 1	2 (50)	51 (54,3)	1,000
CV (cp/mL)	28 (20-46)	20 (20-50)	0,912
CV < 50 cp/mL	4 (100)	75 (79,8)	1,000
Tiempo de supresión viral (años)	5,3 (3,1- 9,1)	6,3 (3,0-8,2)	1,000
Nadir de CD4 (cel./mm ³)	87 (39-170)	360 (195-565)	0,017*
Meses con CD4 < 200 cel./mm ³	6 (2,9-8,7)	0,0 (0,0-0,0)	0,001*
Edad de inicio de TAR	3,4 (0,8-12)	1,4 (0,5-4,1)	0,289
Edad de inicio de TARGA	6,2 (2,9-12,2)	3,9 (1,5-6,5)	0,206
Régimen basado en ITINN	0 (0)	28 (29,8)	0,576
Régimen basado en IP	3 (75)	51 (54,3)	0,625
Régimen basado en ITINN e IP	1 (25)	12 (12,8)	0,439
IP en el momento de DXA	4 (100)	64 (68,1)	0,309
IP /r en momento de DXA	4 (100)	62 (66)	0,300
TDF en el momento de DXA	1 (25)	26 (27,7)	1,000
Exposición acumulada a ARV (años)	12,6 (7,0-14,8)	11,9 (8,8-14,2)	0,893
Exposición acumulada a IP (años)	9,9 (5,6-14,0)	8,2 (4,0-10,9)	0,388
Exposición acumulada a ITINN (años)	2,0 (0,1-10,0)	3,0 (0,1-7,0)	0,986
Exposición acumulada a TDF (años)	0,2 (0,0-2,6)	0,0 (0,0-1,4)	0,561
Exposición previa a IP	4 (100)	83 (88,3)	1,000
Exposición previa a IP/r	4 (100)	74 (78,7)	0,579
Exposición previa a IDV	1 (25)	7 (7,4)	0,293
Exposición previa a TDF	2 (50)	29 (31,9)	0,595
Factores de riesgo tradicionales			
Z-score de Peso	-0,2 (-1,3-0,03)	-0,5 (-1,2, -0,01)	0,767
Z-score de Talla	-0,3 (-1,5-0,8)	-0,6 (-1,5, -0,06)	0,489
Z-score de IMC	-0,3 (-0,9-0,07)	-0,3 (-0,8-0,3)	0,879
Tabaquismo (n=79)	1 (33)	15 (19,7)	0,498
Ejercicio físico intenso (n=66)	0 (0)	36 (57,1)	0,089
No ejercicio físico (n=66)	2 (66,7)	9 (14,3)	0,070
Vitamina D (ng/mL) (n=92)	16,9 (13,6-22,1)	24 (16,7-29,0)	0,116
Vitamina D < 20ng/mL (n=92)	3 (75)	27 (30,7)	0,100
PTH (pg/mL) (n=81)	65 (39-77)	40 (29-50)	0,070
PTH > 65 pg/mL (n=81)	2 (50)	7 (9,1)	0,059
Fosfatasa alcalina sérica (UI/L) (n=92)	97 (77-110)	124 (81-253)	0,306

Analizando ZDMOtalla como variable continua con las diferentes variables categóricas, solo se encontró asociación significativa con PTH elevada y con estadio inmunológico CDC 3 (**Tabla 12**). Tenían menor ZDMOtalla los pacientes con PTH > 65 pg/mL comparado con aquellos con niveles normales de PTH (-1,2 (RIQ:-2,1,-0,5 vs. -0,1 (RIQ:-0,8-0,5), p=0,004). Así mismo, los pacientes con estadio inmunológico CDC 3 tenían menor ZDMOtalla comparado con aquellos con estadio inmunológico CDC 1-2 (-0,5 (RIQ:-1,2-0,3) vs. 0,1 (RIQ:-0,6-0,8), p=0,029).

Tabla 12. Relación de Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) con variables categóricas.

	ZDMOtalla	p
Datos demográficos		
Sexo femenino vs. masculino	-0,2 (-0,8 - 0,5) vs. -0,5 (-1,2 - 0,4)	0,457
Raza blanca vs. no blanca	-0,4 (-1,2 - 0,3) vs. 0,1 (-0,7 - 0,7)	0,137
Raza negra vs. no negra	0,4 (-0,7 - 0,8) vs. -0,3 (-1,1 - 0,4)	0,158
Estadio puberal de Tanner 4- 5 vs. 1-3	-0,4 (-1,1 - 0,4) vs. 0,1 (-0,5 - 1,1)	0,078
Factores relacionados con el VIH		
Categoría clínica CDC C vs. A-B	-0,5 (-1,2 - 0,3) vs. - 0,1 (-0,8 - 0,5)	0,169
Categoría inmunológica CDC 3 vs. 1-2	-0,5 (-1,2 - 0,3) vs. 0,1 (-0,6 - 0,8)	0,029*
Encefalopatía vs. no encefalopatía	-0,3 (-1,7- 0,6) vs. -0,3 (-0,8 - 0,4)	0,509
Lipodistrofia vs. no lipodistrofia	0,0 (-0,6 - 0,7) vs. -0,4 (-1,2 - 0,4)	0,140
Coinfección por VHC vs. no coinfección	-0,3 (-1,1 - 0,2) vs. -0,3 (-1,0 - 0,5)	0,698
CV detectable vs. indetectable	-0,2 (-1,1 - 0,2) vs. -0,3 (-1,0 - 0,5)	0,709
Cociente CD4/CD8 <1 vs. ≥1	-0,5 (-1,2-0,2) vs. 0,1 (-0,8 - 0,7)	0,057
Régimen basado ITINN vs. no basado en ITINN	-0,3 (-1,0 - 0,5) vs. -0,2 (-1,1 -0,4)	0,789
Régimen basado IP vs. no basado en IP	-0,1 (-1,2 - 0,4) vs. -0,3 (-0,9 - 0,5)	0,808
IP en el momento de DXA vs. no IP	-0,2 (-1,1 - 0,4) vs. -0,3 (-1,0 - 0,7)	0,646
TDF en momento de DXA vs. no TDF	-0,5 (-1,3 - 0,4) vs. -0,1 (-0,8 - 0,5)	0,297
DRV en momento de DXA vs. no DRV	-0,1 (-0,5 - 0,6) vs. -0,3 (-1,1 - 0,5)	0,460
MVC en momento de DXA vs. no MVC	-0,1 (-0,8 - 1,2) vs. -0,3 (-1,0 - 0,4)	0,415
RAL en momento de DXA vs. no RAL	-0,1 (-0,9 - 0,2) vs. -0,3 (-1,0 - 0,5)	0,790
Exposición previa a IP vs. no exposición	-0,2 (-1,1 - 0,5) vs. -0,4 (-1,0 - 0,0)	0,661
Exposición previa a TDF vs. no exposición	-0,4 (-1,2 - 0,3) vs. -0,1 (-0,8 - 0,5)	0,287
Exposición previa a IDV vs. no exposición	-0,1 (-1,1 - 0,1) vs. -0,3 (-1,0 - 0,5)	0,683
Factores de riesgo tradicionales		
Z- score de Peso < -1,5 vs. ≥ -1,5	-0,8 (-1,6 - 0,2) vs. -0,2 (-0,8 - 0,5)	0,120
Z- score de Talla < -1,5 vs. ≥ -1,5	-0,1 (-0,6 - 0,4) vs. -0,3 (-1,2 - 0,5)	0,729
Z- score de IMC < -1,5 vs. ≥ -1,5	-1,5 (-1,8 - 0,6) vs. -0,2 (-0,9 - 0,5)	0,161
Tabaquismo vs. no tabaquismo	-0,6 (-1,15 , -0,03) vs. -0,07 (-0,8 - 0,5)	0,121
Ejercicio intenso vs. no intenso	-0,3 (-0,7 - 0,4) vs. -0,3 (-1,4 - 0,8)	0,615
No ejercicio vs. ejercicio intenso/moderado/leve	-0,9 (-1,9 -0,8) vs. -0,3 (-0,7 - 0,5)	0,182
Ingesta de vitamina D < 400 vs. ≥ 400 UI/día	-0,2 (-0,8-0,8) vs. - 0,5 (-1,2-0,0)	0,212
Vitamina D < 20 ng/mL vs. ≤ 20 ng/mL	-0,6 (-1,2 - 0,5) vs. -0,1 (-0,8 - 0,5)	0,300
PTH > 65 pg/mL vs. ≤ 65 pg/ml	-1,2 (-2,1,-0,5) vs. -0,1 (-0,8 - 0,5)	0,004*

5.1.3.3. Predictores de Densidad Mineral Ósea baja

Se construyeron dos modelos multivariantes para explorar factores predictores de DMO baja a través del método stepwise, utilizando como variable dependiente en el primero el ZDMO y en el segundo el ZDMOtalla.

Modelo 1: Análisis con ZDMO como variable dependiente

Se incluyeron en el modelo las siguientes variables independientes: edad, sexo, etnia blanca, encefalopatía, estadio puberal de Tanner 4-5, nadir de CD4, tiempo de supresión viral, recuento de linfocitos T CD4⁺, cociente CD4/CD8, Z-score de peso, Z-score de talla, exposición acumulada a ARV, exposición acumulada a TDF y exposición acumulada a IP.

Un menor Z-score de peso (B=0,502, IC 95%: 0,253-0,752, p<0,001), cifras más bajas de nadir de CD4 (B=0,124 por cada aumento de 100 cel./mm³, IC 95%: 0,048-0,199, p=0,002) y mayor tiempo de exposición acumulada a IP (B= -0,056, IC 95%: -0,103, -0,010, p=0,018) fueron factores predictores de menor ZDMO (**Tabla 13**).

Tabla 13. Modelo multivariante mediante regresión lineal múltiple, procedimiento stepwise, con Z-score de DMO (ZDMO) como variable dependiente.

Modelo	B	Error Típico	Beta	t	Sig.	IC 95% para B Límite inferior	Límite superior
(Constante)	-0,450	0,248		-1,811	0,073	-0,943	0,043
Z-score de peso	0,502	0,125	0,360	4,004	<0,001	0,253	0,752
Nadir de CD4.100	0,124	0,038	0,279	3,246	0,002	0,048	0,199
Tiempo de exposición a IP	-0,056	0,023	-0,214	-2,414	0,018	-0,103	-0,010

Modelo 2: Análisis con ZDMOtalla como variable dependiente.

Se incluyeron como variables independientes: edad, sexo, etnia blanca, encefalopatía, estadio puberal de Tanner 4-5, nadir de CD4, tiempo de supresión viral, recuento de

linfocitos T CD4, cociente CD4/CD8, Z-score de IMC, exposición acumulada a ARV, exposición acumulada a TDF y exposición acumulada a IP.

Solo nadir de CD4 ($B=0,099$ por cada aumento de 100 cel./mm^3 , IC 95%: 0,021-0,177, $p=0,013$) fue factor predictor asociado a ZDMOtalla (**Tabla 14**).

Tabla 14. Modelo multivariante mediante regresión lineal múltiple, procedimiento stepwise, con Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) como variable dependiente.

Modelo	B	Error Típico	Beta	t	Sig.	IC 95% para B Límite inferior	Límite superior
(Constante)	-0,597	0,182		-3,283	0,001	-0,958	-0,236
Nadir de CD4.100	0,099	0,039	0,251	2,531	0,013	0,021	0,177

5.2. ANÁLISIS DE SENESCENCIA/ACTIVACIÓN INMUNE Y SU RELACIÓN CON DENSIDAD MINERAL ÓSEA

5.2.1. Características de los pacientes

Se evaluaron marcadores de activación y senescencia en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ en un subgrupo de 54 de los 98 pacientes.

No hubo diferencias significativas entre este subgrupo de 54 pacientes donde se realizó inmunofenotipado y el grupo de 98 pacientes del estudio (**Tabla 15**).

Las principales características de este subgrupo de 54 pacientes se muestran en la **Tabla 15**. La mediana de edad en este subgrupo de pacientes fue de 16,1 años (RIQ: 12,6-16,9), 64,8% eran mujeres y 68,5% de etnia blanca. Todos recibían TAR y el 81,5% tenía CV indetectable. El intervalo entre DXA y el análisis de inmunofenotipo fue de 7,2 meses (RIQ: 1,2-14,4).

La mediana de ZDMO fue de -0,9 (RIQ: -1,8 - -0,1) y de ZDMOtalla -0,5 (RIQ: -1,1 - 0,3). Diez pacientes de los 54 (18,5%) presentaban DMO baja (ZDMO \leq -2). Tras ajuste de talla, solo 4 de los 54 (7,4%) pacientes cumplían el criterio de DMO baja (ZDMOtalla \leq -2).

Los pacientes con CV detectable tenían mayor frecuencia de linfocitos T CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺) (11,1% (RIQ: 2,5-17,2) vs. 1,6 (RIQ: 0,5-3,6), p=0,007) y de linfocitos T CD8⁺ senescentes (CD57⁺ CD28⁻) (25,3% (RIQ: 20,9-31,1) vs. 14,1 (RIQ: 9,9-23,2), p=0,006), en comparación con el grupo de pacientes con CV indetectable. Además, se encontró una correlación negativa entre el cociente CD4/CD8 y la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ senescentes (r= -0,326, p=0,016 y r= -0,515, p<0,001 respectivamente). La inversión del cociente CD4/CD8 se asoció a mayor senescencia de linfocitos T CD8⁺ (21,95% (RIQ: 17,9-27,9) vs. 11,9 (RIQ: 8,8-20,0), p=0,005). También, se observó una tendencia a mayor senescencia de linfocitos T CD4⁺ en los pacientes con cociente CD4/CD8 invertido, que no fue significativa estadísticamente (0,7% (RIQ: 0,2-2,4) vs. 0,2% (RIQ: 0,04-1,2), p=0,070).

Tabla 15. Características del subgrupo de pacientes incluidos en el análisis de inmunofenotipado (n=54) y del total de pacientes del estudio (n=98).

	Subgrupo Inmunofenotipado (n=54)	Total de pacientes del estudio (n=98)	P
Datos Demográficos			
Edad	16,1 (12,6-16,9)	15,9 (12,9-17,0)	0,820
Sexo Femenino	35 (64,8)	69 (70,4)	0,478
Etnia			
Negro o mulato	7 (13)	15 (15,3)	0,694
Blanco/Caucásico	37 (68,5)	70 (71,4)	0,707
Estadio puberal de Tanner 4-5	41 (75,9)	76 (77,6)	0,820
Datos de DXA			
ZDMO	-0,9 (-1,8,-0,1)	-0,8 (-1,4-0,1)	0,236
ZDMO ≤ -2	10 (18,5)	15 (15,3)	0,609
ZDMOtalla	-0,5 (-1,2-0,3)	-0,3 (-1,0-0,3)	0,310
ZDMOtalla ≤ -2	4 (7,4)	4 (4,1)	0,455
Factores relacionados con VIH			
Categoría clínica CDC C	17 (31,5)	32 (32,7)	0,882
Categoría inmunológica CDC 3	25 (47,2)	54 (55,7)	0,319
Encefalopatía	8 (14,8)	14 (14,3)	0,929
Lipodistrofia	16 (29,6)	29 (29,6)	0,996
Coinfección por VHC	3 (5,6)	5 (5,1)	1,000
CD4 (cel./mm ³)	786 (591-1088)	759 (573-1037)	0,615
Cociente CD4/CD8	1,0 (0,7-1,2)	0,9 (0,7-1,2)	0,447
CV < 50 cp/mL	43 (79,6)	79 (80,6)	0,884
Tiempo de supresión viral (años)	6,3 (4,2-7,9)	6,3 (3,0-8,2)	0,841
Nadir de CD4(cel./mm ³)	368 (182-578)	359 (182-558)	0,647
Meses con CD4 < 200 cel./mm ³	0 (0,0-0,7)	0,0 (0,0-0,6)	0,774
Edad de inicio de TAR (años)	1,3 (0,5-4,5)	1,4 (0,5-4,2)	0,882
Edad de inicio de TARGA (años)	3,7 (1,7-6,7)	3,9 (1,6-6,6)	0,991
Régimen basado en ITINN	14 (25,9)	28 (28,6)	0,727
Régimen basado en IP	33 (61,1)	54 (55,1)	0,474
Régimen basado en ITINN e IP	7 (13)	13 (13,3)	0,958
IP en el momento de DXA	40 (74,1)	68 (69,4)	0,542
TDF en el momento de DXA	16 (29,6)	26 (26,5)	0,683
Exposición acumulada a ARV (años)	10,6 (8,5-14,7)	12,0 (8,8-14,2)	0,890
Exposición acumulada a IP (años)	8,2 (5,0-12,6)	8,2 (4,4-11,1)	0,669
Exposición acumulada a TDF (años)	0,0 (0,0-1,5)	0,0 (0,0-1,4)	0,670
Exposición previa a IP	47 (87)	87 (88,8)	0,751
Exposición previa a IP/r	45 (83,3)	78 (79,6)	0,574
Exposición previa a TDF	19 (35,2)	31 (31,6)	0,655
Factores de riesgo tradicionales			
Z-score de Peso	-0,6(-1,315,-0,005)	-0,5 (-1,26, -0,01)	0,532
Z-score de Talla	-0,7 (-1,5, -0,3)	-0,6 (-1,50, -0,03)	0,606
Z-score de IMC	-0,4 (-0,9-0,3)	-0,3 (-0,8-0,2)	0,804
Tabaquismo	11 (22,4)	16 (20,3)	0,767
Ingesta de vitamina D (UI/día)	217 (145-369)	217 (139-344)	0,691
Vitamina D (ng/mL)	23,2 (16,9-27,7)	24,0 (16,6-28,7)	0,728
PTH (pg/mL)	40 (30-54)	40 (29-52)	0,722
Fosfatasa alcalina sérica (UI/L)	136 (87-288)	119 (81-245)	0,554

5.2.2. Análisis de Densidad Mineral Ósea sin ajustar por la talla

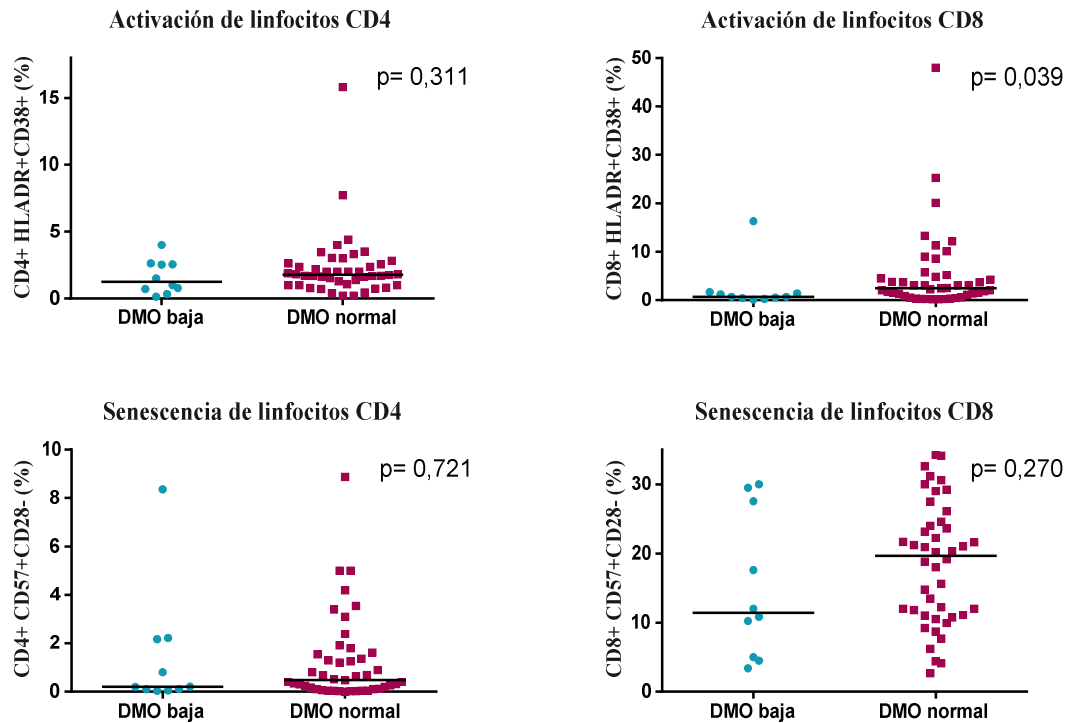
Se compararon la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLADR⁺ CD38⁺) y senescentes (CD57⁺ CD28⁻) entre los 10 pacientes con DMO baja (ZDMO ≤ -2) y los 44 pacientes con DMO normal (ZDMO > -2).

Los pacientes con DMO baja presentaban menor proporción de linfocitos T CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺) que aquellos con DMO normal (0,7% (RIQ: 0,4-1,4) vs . 2,5 (RIQ: 0,8-5,2), p=0,039). No se observaron otras diferencias significativas entre los dos grupos (**Tabla 16 y Figura 37**).

Tabla 16. Comparación entre los 10 pacientes con DMO baja (ZDMO ≤ -2) y los 44 pacientes con DMO normal (ZDMO > -2) en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺.

	ZDMO ≤ -2 (n=10)	ZDMO > -2 (n=44)	P
Activación de linfocitos T			
CD4+ HLADR+CD38+ (%)	1,2 (0,6-2,5)	1,7 (1,0-2,6)	0,311
CD4+ HLADR+ (%)	5,4 (1,6-15,0)	4,6 (2,8-8,9)	0,947
CD8+ HLADR+CD38+ (%)	0,7 (0,4-1,4)	2,5 (0,8-5,2)	0,039*
CD8+ HLADR+ (%)	2,4 (0,8-8,6)	6,0 (1,5-22,8)	0,155
Senescencia de linfocitos T			
CD4+ CD57+CD28- (%)	0,2 (0,08-2,1)	0,4 (0,1-1,6)	0,721
CD8+ CD57+CD28- (%)	11,4 (4,8-28,0)	19,6 (11,0-24,4)	0,270

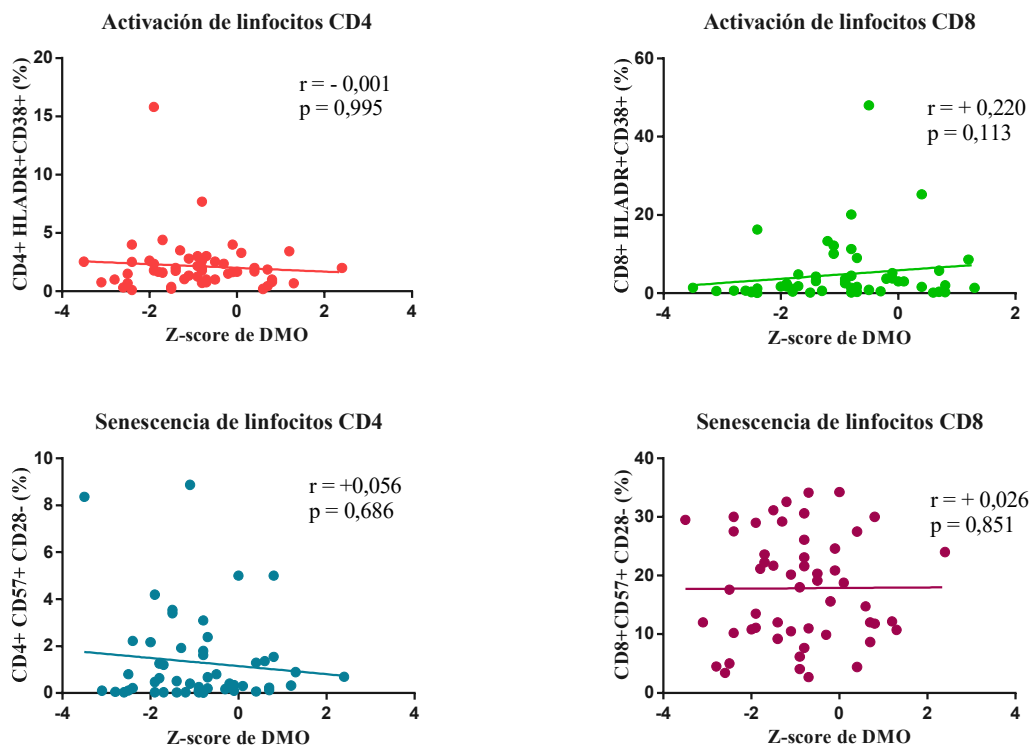
Figura 37. Comparación entre los 10 pacientes con DMO baja ($ZDMO \leq -2$) y los 44 pacientes con DMO normal ($ZDMO > -2$) sin ajustar por la talla en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$.



Se analizó la correlación entre ZDMO y la frecuencia de linfocitos T $CD8^+$ activados ($HLADR^+ CD38^+$) sin encontrarse correlación significativa ($r = +0,220$, $p=0,113$).

Tampoco se detectó correlación significativa de ZDMO con la frecuencia de linfocitos T $CD4^+$ activados ($HLADR^+ CD38^+$) ni con la de los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ senescentes ($CD57^+ CD28^-$). (**Figura 38**)

Figura 38. Correlaciones de Z-score de DMO (ZDMO) y marcadores de activación y senescencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺. R representa el coeficiente de correlación de Spearman.



Se realizó un análisis multivariante con objetivo de determinar si la activación de linfocitos T CD8⁺ es un factor explicativo de DMO baja mediante una serie de análisis consecutivos de regresión lineal múltiple incluyendo potenciales factores de confusión: edad, sexo, etnia blanca, estadio puberal de Tanner, encefalopatía, Z-score de peso, Z-score de talla, recuento de linfocitos T CD4⁺, CV detectable, cociente CD4/CD8, nadir de CD4, tiempo de exposición a ARV, a TDF y a IP. El efecto de la activación de linfocitos T CD8⁺ sobre ZDMO no permaneció significativo, ajustado por etnia blanca, Z-score de peso y de talla, recuento de linfocitos T CD4⁺, nadir de CD4 y tiempo de ARV y de IP. (Tabla 17)

Tabla 17. Modelo multivariante con variable dependiente Z-score de DMO (ZDMO).

Modelo	B	Error Típico	Beta	t	Sig.	IC 95% para B	
						Límite Inferior	Límite Superior
(Constante)	-0,455	0,507		-0,897	0,375	-1,476	0,567
CD8+ HLADR+CD38+	-0,005	0,016	-0,036	-0,330	0,743	-0,037	0,026
Etnia blanca	-0,645	0,373	-0,261	-1,728	0,091	-1,398	0,107
Z- score de Peso	0,313	0,204	0,245	1,533	0,132	-0,098	0,724
Z- score de Talla	0,213	0,179	0,186	1,184	0,243	-0,149	0,574
Recuento de CD4	0,000	0,000	-0,096	-0,757	0,453	-0,001	0,000
Nadir de CD4 (100)	0,096	0,047	0,245	2,054	0,046	0,002	0,190
Tiempo de exposición IP	-0,070	0,041	-0,286	-1,727	0,091	-0,152	0,012
Tiempo de exposición ARV	0,062	0,042	0,218	1,480	0,146	-0,023	0,147

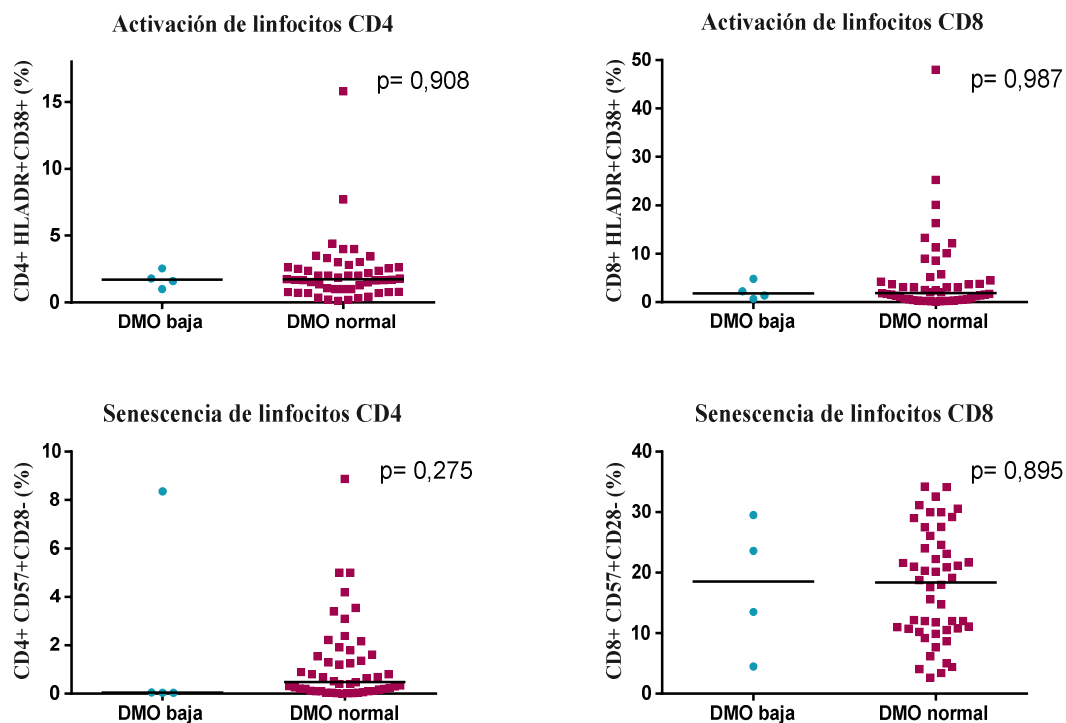
5.2.3. Análisis de Densidad Mineral Ósea ajustada por la talla

Comparando los 4 pacientes con DMO baja ($ZDMO_{talla} \leq -2$) con los 50 pacientes con DMO normal ($ZDMO_{talla} > -2$), no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ activados ($HLADR^+CD38^+$) o senescentes ($CD57^+CD28^-$). (Tabla 18 y Figura 39)

Tabla 18. Comparación entre los 4 pacientes con DMO baja ($ZDMO \leq -2$) y los 50 pacientes con DMO normal ($ZDMO > -2$) tras ajuste por la talla en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$.

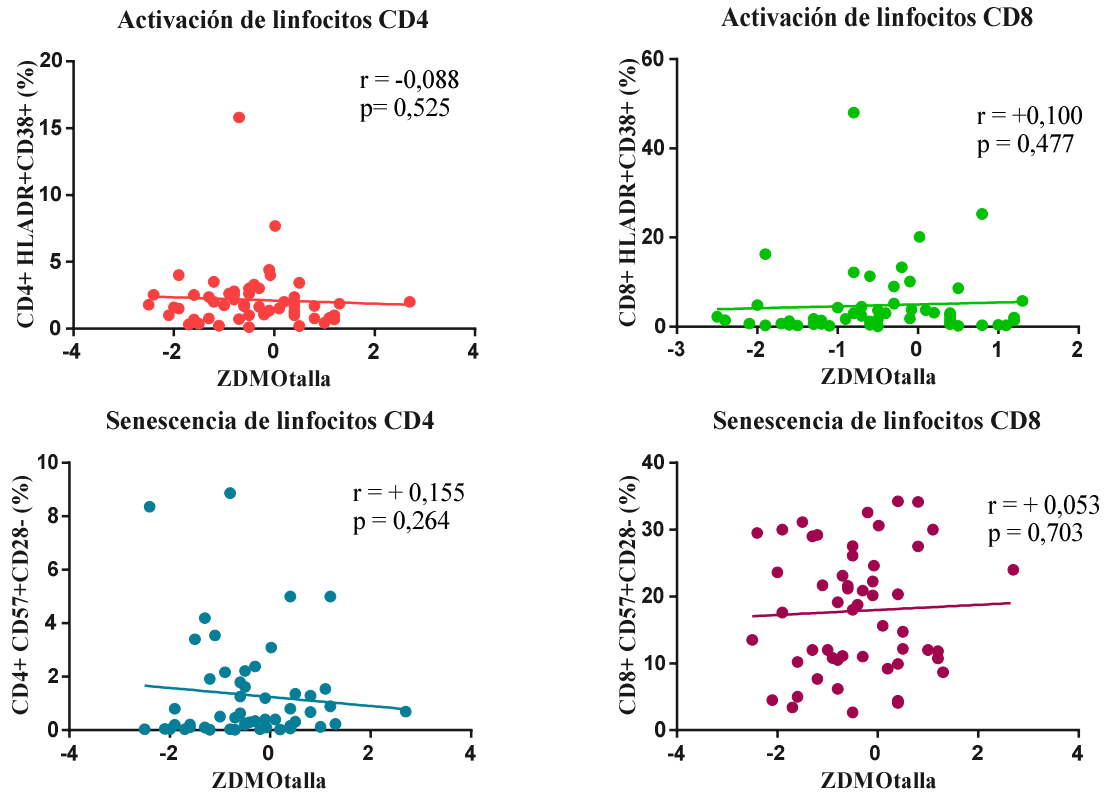
	ZDMO _{talla} ≤ -2 (n=4)	ZDMO _{talla} > -2 (n=50)	P
Activación de linfocitos T			
CD4+ HLADR+CD38+ (%)	1,7 (1,1-2,3)	1,7 (0,9-2,6)	0,908
CD4+ HLADR+ (%)	4,8 (2,4-22,2)	4,9 (2,8-9,3)	0,908
CD8+ HLADR+CD38+ (%)	1,8 (0,8-4,1)	1,8 (0,5-4,8)	0,987
CD8+ HLADR+ (%)	12,4 (3,6-26,1)	4,9 (0,9-20,3)	0,381
Senescencia de linfocitos T			
CD4+ CD57+CD28- (%)	0,04 (0,04-6,2)	0,4 (0,1-1,6)	0,275
CD8+ CD57+CD28- (%)	18,5 (6,7-28,0)	18,4 (10,6-24,9)	0,895

Figura 39. Comparación entre los 4 pacientes con DMO baja (ZDMO talla ≤ -2) y los 50 pacientes con DMO normal (ZDMO > -2) tras ajuste por la talla en relación a la activación y senescencia de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺.



No se detectaron correlaciones significativas entre ZDMOtalla y la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺) o senescentes (CD57⁺CD28⁻). En la **Figura 40** se muestran las correlaciones de ZDMO talla.

Figura 40. Correlaciones de Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla) y marcadores de activación y senescencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺. R representa el coeficiente de correlación de Spearman.



5.3. ANÁLISIS DE ESTADO PROINFLAMATORIO Y SU RELACIÓN CON DENSIDAD MINERAL ÓSEA

Se evaluaron marcadores de inflamación (PCRhs e IL-6) y marcadores de activación de monocitos (CD14s) en un subgrupo de 24 de los 98 pacientes incluidos en el estudio.

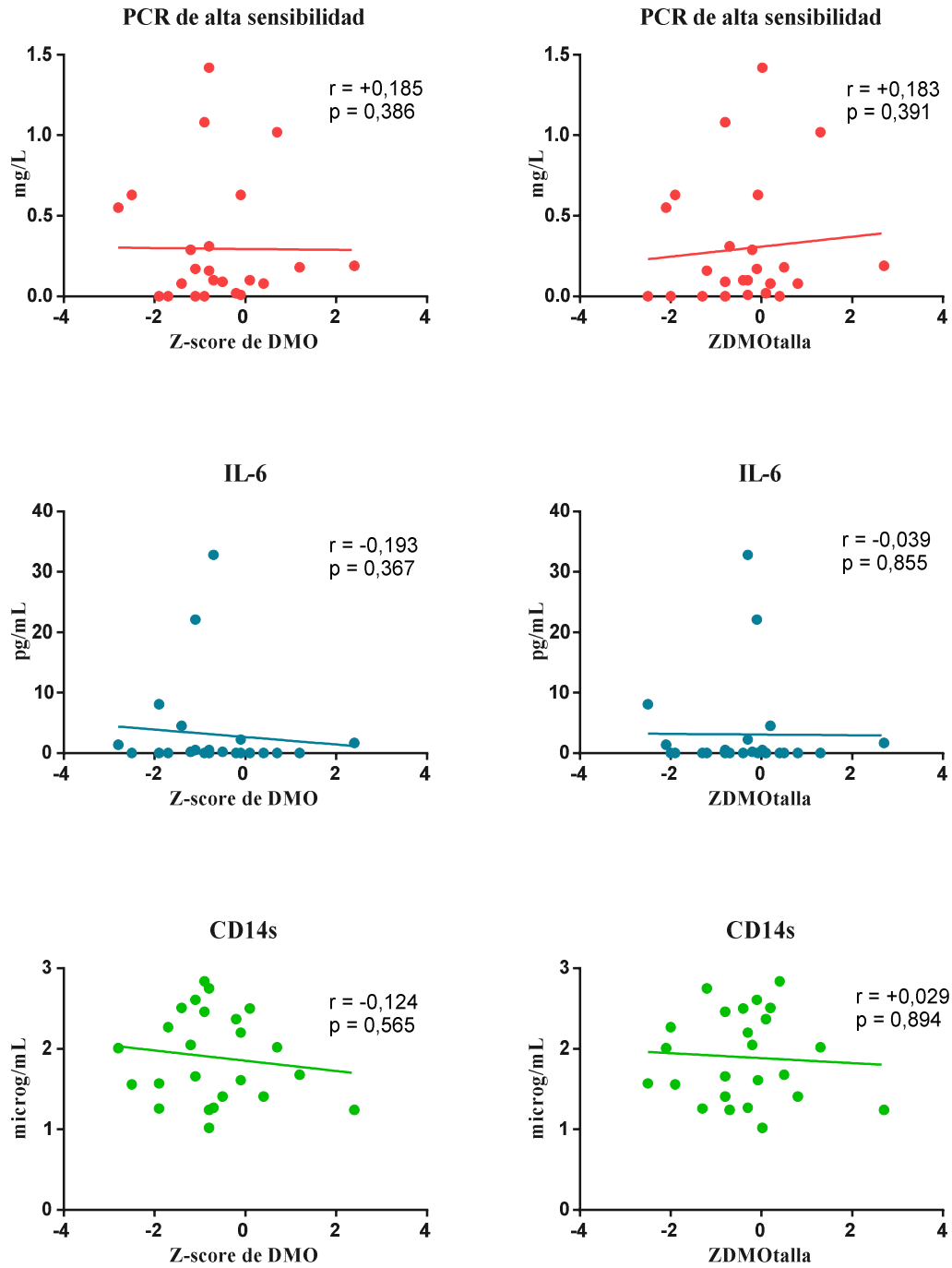
No hubo diferencias significativas entre este subgrupo de 24 pacientes donde se realizó análisis de inflamación y el grupo de 98 pacientes del estudio (**Tabla 19**).

Se analizaron las correlaciones entre ZDMO y ZDMOtalla con estos marcadores de inflamación (PCRhs e IL-6) y de activación de monocitos (CD14s), sin encontrarse asociación significativa (**Figura 41**).

Tabla 19. Características del subgrupo de pacientes incluidos en el análisis de marcadores de inflamación (n=24) y del total de pacientes del estudio (n=98).

	Subgrupo Inflamación (n=24)	Total de pacientes del estudio (n=98)	P
Datos Demográficos			
Edad	16,2 (12,3-17,6)	15,9 (12,9-17,0)	0,584
Sexo Femenino	19 (79,2)	69 (70,4)	0,391
Etnia			
Negro o mulato	4 (16,7)	15 (15,3)	1,000
Blanco/Caucásico	15 (62,5)	70 (71,4)	0,394
Estadio puberal de Tanner 4-5	19 (79,2)	76 (77,6)	0,864
Datos de DXA			
ZDMO	-0,8 (-1,3,-0,1)	-0,8 (-1,4-0,1)	0,908
ZDMO ≤ -2	2 (8,3)	15 (15,3)	0,520
ZDMOtalla	-0,3 (-1,1-0,1)	-0,3 (-1,0-0,3)	0,497
ZDMOtalla ≤ -2	3 (12,5)	4 (4,1)	0,136
Factores relacionados con VIH			
Categoría clínica CDC C	9 (32,7)	32 (32,7)	0,652
Categoría inmunológica CDC 3	13 (54,2)	54 (55,7)	0,894
Encefalopatía	4 (16,7)	14 (14,3)	0,753
Coinfección por VHC	2 (8,3)	5 (5,1)	0,623
CD4 (cel./mm ³)	777 (574-1221)	759 (573-1037)	0,620
Cociente CD4/CD8	0,9 (0,7-1,3)	0,9 (0,7-1,2)	0,720
CV < 50 cp/mL	19 (79,2)	79 (80,6)	1,000
Tiempo de supresión viral (años)	4,9 (2,8-6,9)	6,3 (3,0-8,2)	0,239
Nadir de CD4 (cel./mm ³)	303 (186-461)	359 (182-558)	0,762
Meses con CD4 < 200 cel./mm ³	0,0 (0,0-0,4)	0,0 (0,0-0,6)	0,965
Edad de inicio de TAR (años)	1,5 (0,5-5,2)	1,4 (0,5-4,2)	0,760
Edad de inicio de TARGA (años)	4,4 (2,3-7,5)	3,9 (1,6-6,6)	0,215
Exposición acumulada a ARV (años)	10,4 (5,8-15,5)	12,0 (8,8-14,2)	0,499
Exposición acumulada a IP (años)	6,8 (2,0-11,3)	8,2 (4,4-11,1)	0,451
Exposición acumulada a TDF (años)	0,0 (0,0-1,2)	0,0 (0,0-1,4)	0,988
Factores de riesgo tradicionales			
Z-score de Peso	-0,4(-1,2-0,1)	-0,5 (-1,26, -0,01)	0,699
Z-score de Talla	-0,5 (-1,1-0,1)	-0,6 (-1,50, -0,03)	0,334
Z-score de IMC	-0,4 (-0,8-0,3)	-0,3 (-0,8-0,2)	0,760
Tabaquismo	6 (27,3)	16 (20,3)	0,561
Ingesta de vitamina D (UI/día)	191 (129-390)	217 (139-344)	0,699
Vitamina D (ng/mL)	20,0 (16,0-24,0)	24,0 (16,6-28,7)	0,081
PTH (pg/mL)	41 (28-60)	40 (29-52)	0,537
Fosfatasa alcalina sérica (UI/L)	118 (83-186)	119 (81-245)	0,916

Figura 41. Correlaciones entre DMO y marcadores de inflamación (PCRhs e IL-6) y de activación de monocitos (CD14s) en 24 pacientes. Los gráficos de la izquierda muestran las correlaciones de Z-score de DMO sin ajustar por la talla (ZDMO) y los gráficos de la derecha las correlaciones con Z-score de DMO ajustado por la talla (ZDMOtalla). R representa el coeficiente de correlación de Spearman.



5.4. ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE VITAMINA D Y ACTIVACIÓN Y SENESCENCIA INMUNE

En el grupo de pacientes con inmunofenotipado (n=54), existía disponible dato sobre vitamina D en 51 de los 54 pacientes. La mediana de vitamina D fue de 23,2 ng/mL (RIQ: 16,9-27,7) y 35,3% presentaban deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL).

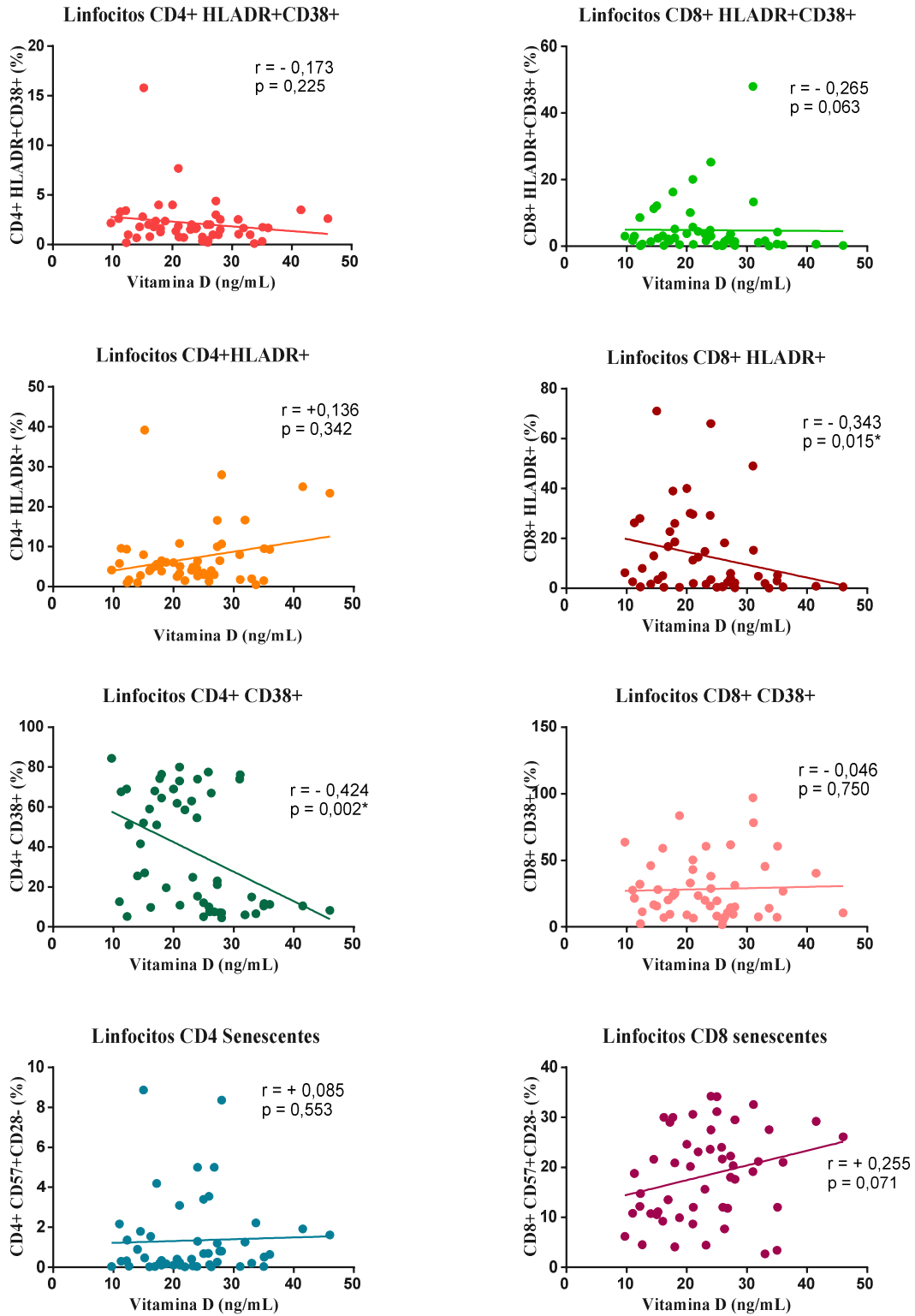
Se analizaron las correlaciones entre vitamina D y la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺) y senescentes (CD57⁺CD28⁻), no siendo estadísticamente significativa ninguna. (**Figura 42**)

Analizando activación inmune como expresión de HLADR⁺ o como expresión de CD38⁺ en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, se observó correlación inversa entre los niveles de vitamina D y la proporción de linfocitos T CD8⁺ HLADR⁺ (r= -0,343, p=0,015) y linfocitos T CD4⁺ CD38⁺ (r= -0,424, p=0,002). (**Figura 42**)

A continuación, se compararon los 18 pacientes con deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL) con los 33 pacientes con vitamina D ≥ 20 ng/mL respecto a la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados (HLADR⁺CD38⁺ ó HLADR⁺ ó CD38⁺) y senescentes (CD57⁺CD28⁻).

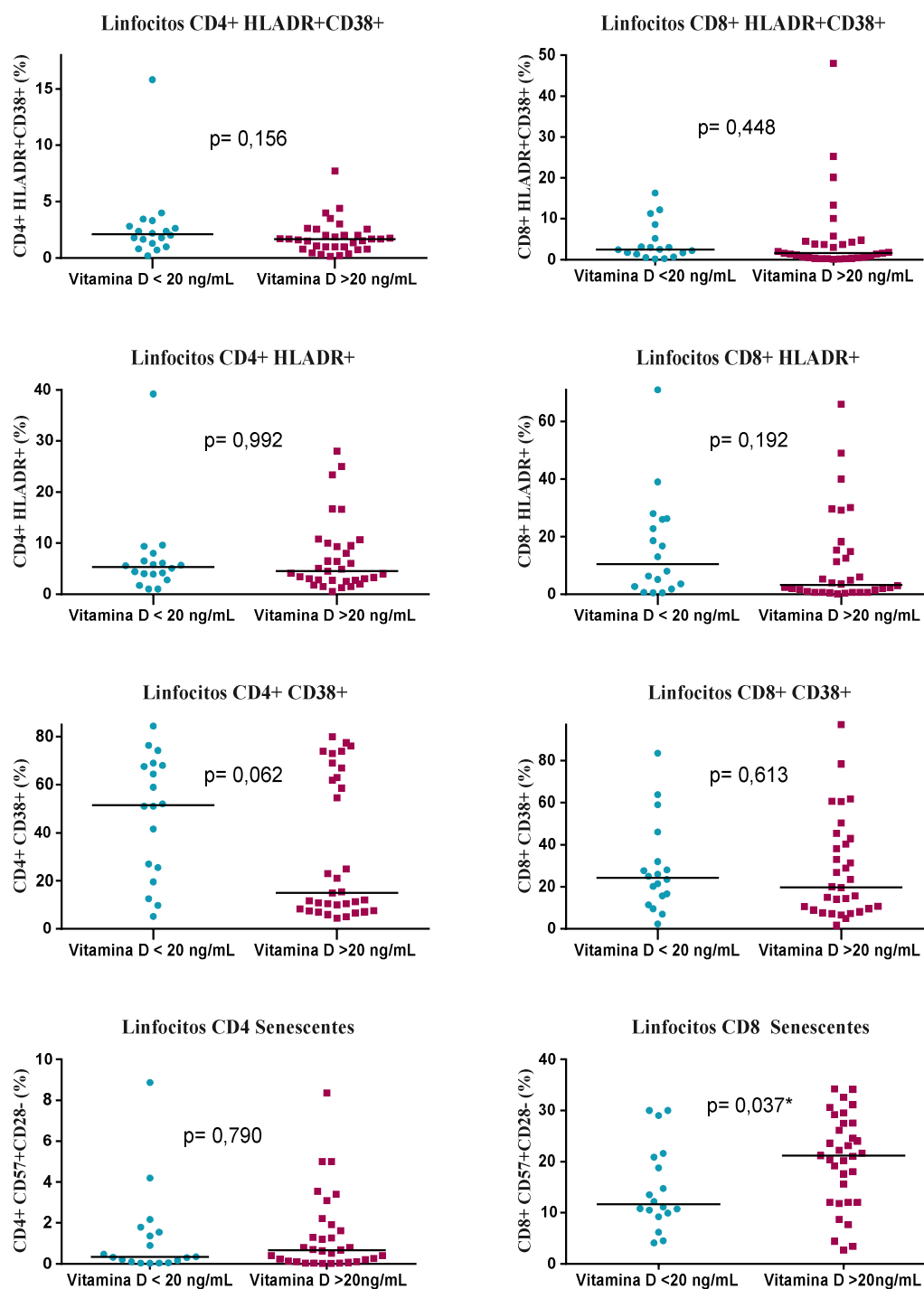
Los pacientes con deficiencia de vitamina D tuvieron menor proporción de linfocitos T CD8⁺ senescentes (CD57⁺CD28⁻) (11,6 % (RIQ: 9,7-21,0) vs. 21,1% (RIQ: 12,0-27,5), p=0,037); no se encontraron otras relaciones estadísticamente significativas. (**Figura 43**)

Figura 42. Correlaciones entre vitamina D y la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ con marcadores de activación (HLADR⁺CD38⁺ ó HLADR⁺ ó CD38⁺) y senescencia (CD57⁺CD28⁻) en 51 pacientes.



* significativo (p<0,05)

Figura 43. Comparación de marcadores de activación (HLADR⁺CD38⁺ ó HLADR⁺ ó CD38⁺) y senescencia (CD57⁺CD28⁻) de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ en los 18 pacientes con deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL) y los 33 pacientes sin deficiencia de vitamina D (≥ 20 ng/mL) en el grupo de 51 pacientes con datos sobre vitamina D.



* significativo (p<0,05)

6. DISCUSIÓN

Desde la introducción del TAR, la morbimortalidad de la infección por VIH se ha reducido. Simultáneamente, las complicaciones no infecciosas de la infección por VIH y del TAR han aumentado significativamente en los individuos infectados por VIH.

Se ha descrito una mayor prevalencia de DMO baja en población adulta infectada por VIH respecto a individuos sanos.¹³⁰ La mayoría de los estudios publicados que comparan la DMO en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical respecto a no infectados muestran menor DMO en los pacientes infectados por VIH.^{128, 134-143} La prevalencia de DMO baja ($Z\text{-score} \leq -2$) en cohortes pediátricas oscila entre el 4 y el 32%,^{139, 144, 147-149} siendo mayor en los países de renta intermedia (Tailandia 24%,¹³⁹ Brasil 16,7%¹⁴⁷ y 32,4%¹⁴⁸) respecto a países de renta mayor (EE.UU. 4-7%,¹⁴⁴ Holanda 8%¹⁴⁹). Esta diferencia se puede explicar por la mayor edad, menor nadir de CD4, estadio avanzado de la enfermedad y peor estado nutricional de las cohortes tailandesas y brasileñas.

Sin embargo, en esta Memoria se ha mostrado que la prevalencia de DMO baja ($Z\text{-score} \leq -2$) es intermedia comparada con los estudios publicados, siendo del 15,3%. Nuestra cohorte está formada predominantemente por adolescentes de raza blanca, en TAR y la mayoría de ellos con buena situación nutricional, inmunológica y virológica pero con historia clínica previa de enfermedad grave (55% de los pacientes en categoría inmunológica 3 y el 33% en categoría clínica C de la clasificación CDC 1994) y exposición prolongada a ARV con una mediana de 12 años. Como en el resto de cohortes pediátricas, la mayoría de los pacientes están en TAR. Un aspecto interesante es que si comparamos los resultados obtenidos en nuestra cohorte de pacientes pediátricos de la Comunidad de Madrid con los de las cohortes pediátricas de EE.UU. y Holanda,^{144, 149} la edad de los pacientes incluidos en estas dos cohortes era menor y la proporción de pacientes de raza negra era significativamente mayor que la observada en nuestra cohorte (66-67% vs. 15%). Ambos factores, menor edad y raza negra, están considerados factores protectores, que lo podría explicar la menor prevalencia de DMO baja en las cohortes de EE.UU. y de Holanda que en la nuestra de la Comunidad de Madrid. En el contexto de la cohorte de Madrid, existe un estudio previo con 50 pacientes (algunos también incluidos en nuestro estudio) en el que se observó que el 40% de los pacientes tenían $Z\text{-score}$ de DMO < -1 (el 36% $Z\text{-score}$ entre -1 y $-2,5$ y el

4% Z-score < -2),²⁶⁸ dato similar al mostrado en esta Memoria con mayor número de pacientes (39,8% de los pacientes tenía Z-score de DMO \leq -1).

A pesar de ser la DXA el método de elección para la medición de la DMO, la interpretación de los datos en niños es complicada por la influencia de múltiples factores como la edad, la etnia, el estado puberal, la maduración esquelética, el tamaño del hueso y la composición corporal.¹⁰⁴ La principal limitación de la DXA es la influencia de la talla, que puede infraestimar los valores de DMO en caso de huesos cortos y sobreestimarlos en caso de huesos largos,^{103, 105} por lo que se recomienda ajustar el Z-score de DMO por la talla, sobre todo en niños con estatura baja y retraso madurativo utilizando el método de Z-score de talla o BMAD.⁹¹ En los estudios de cohortes pediátricas descritos previamente^{139, 144, 147-149} no se realizó ajuste por la talla para el reporte de la prevalencia de DMO baja, aunque en el estudio de DiMeglio et al se ajustó por la edad ósea.¹⁴⁴ En esta Memoria, ajustando por Z-score de talla según el método de Zemel et al,²⁶³ la prevalencia de DMO baja fue significativamente menor, 4%, por lo que si no se tiene en cuenta la talla, podríamos estar sobreestimando la prevalencia de DMO baja.

La menor DMO entre niños y adolescentes infectados por VIH respecto a sus pares no infectados se ha atribuido a talla baja, ya que la diferencia en la DMO desaparece cuando la medida se realizaba por TCC,¹⁴⁶ que no está influenciada por el tamaño del hueso o corporal y que es capaz de medir la DMO volumétrica. En este estudio de Pitukcheewanont et al evaluaron la DMO en 58 niños y adolescentes infectados por VIH mediante DXA y TCC simultáneamente y se utilizó un grupo control de niños no infectados pareados por edad, sexo y raza.¹⁴⁶ Los niños con infección por VIH tuvieron retraso madurativo y menor peso y talla que los niños controles no VIH. Encontraron que utilizando DXA, los niños con infección por VIH tenían menor DMO que los niños controles, mientras que si utilizaban TCC los niños con infección por VIH tenían similar DMO que los controles pero menor altura vertebral, por lo que estos autores concluyeron que la menor DMO es debida al menor tamaño corporal y vertebral.¹⁴⁶ Por otra parte, en dos estudios que evaluaron la DMO utilizando DXA las diferencias de DMO entre niños infectados por VIH y controles sanos desaparecían cuando se ajustaba por la talla mediante análisis multivariante,^{144, 145} mientras que en otros estudios

observaron que se mantenía la diferencia entre niños infectados por VIH y controles sanos.^{134, 137, 141, 145}

La malnutrición y talla baja son factores tradicionales asociados a DMO baja en la población general.²⁶⁹ Sin embargo, en la infección por VIH pueden reflejar la gravedad de la infección viral y por lo tanto el ajuste por la talla habría que interpretarlo con cautela en el contexto de la infección vertical por VIH. Aunque la prevalencia de DMO baja en esta Memoria es menor después del ajuste por la talla, el 14% de los pacientes presentaron un Z-score de DMO ajustado por la talla $\leq -1,5$. Considerando que puede que aún los pacientes no hayan alcanzado el PMO, este hecho podría ser clínicamente significativo, dado las consecuencias a largo plazo de una adquisición de la masa ósea subóptima durante la juventud.

Respecto a otras vías de adquisición de la infección VIH, hay pocos estudios en niños y adolescentes no infectados por transmisión vertical.^{270, 271} En un estudio realizado en 16 niños infectados por VIH por vía transfusional, naive al TAR, se demostró que estos pacientes tenían menor CMO en comparación con niños sanos no infectados.²⁷⁰ Así mismo, en otro estudio se observó que adolescentes y jóvenes varones de entre 14 y 25 años de edad infectados por vía sexual en TAR tenían menor DMO que individuos no infectados de igual sexo y rango de edad.²⁷¹ Por otra parte, en otro estudio, jóvenes entre 20 y 25 años de edad infectados por VIH presentaron alteraciones de la microarquitectura ósea y menor DMO en comparación con controles sanos, independientemente de que la infección por VIH se hubiera adquirido perinatalmente o durante la adolescencia.²⁷²

En el **Anexo 2** se resumen los estudios publicados que evalúan la DMO/CMO en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.

6.1. FACTORES DE RIESGO DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA BAJA

La patogénesis de DMO baja en la infección por VIH es compleja y no está del todo establecida. Como se ha mencionado anteriormente, contribuyen tanto factores de riesgo tradicionalmente asociados a DMO baja como la infección VIH y el TAR.

Dentro de los factores tradicionales, el Z-score de DMO en los pacientes de la Cohorte de Madrid seleccionados para este estudio se asoció a menor Z-score de talla, de peso y de IMC, pero cuando se ajustó por Z-score de talla solo se encontró correlación con Z-score de IMC. Un menor Z-score de talla se ha identificado como factor de riesgo en varios estudios realizados en la población pediátrica infectada por VIH,^{136, 139, 145} y también en población no infectada por VIH.²⁶⁹ Sin embargo, hay que tener en cuenta que estos resultados podrían ser una limitación de la DXA como se ha descrito previamente. La malnutrición (bajo peso o IMC) también se ha asociado a DMO baja en niños y adolescentes infectados por VIH,^{145, 148} y es un hallazgo que se ha observado en numerosos estudios realizados en individuos adultos infectados por VIH,^{158, 182, 273-280} incluido en un metanálisis.²⁸¹ Sin embargo, Cotter et al demostraron que la infección por VIH era factor de riesgo independiente de menor DMO, tras realizar ajuste por IMC, factores demográficos y del estilo de vida, y probablemente relacionado con un aumento del catabolismo óseo.²⁸²

Jacobson et al observaron menor DMO en varones infectados por VIH en fases finales de la maduración puberal respecto a niños no infectados pareados por sexo, etnia y estadio puberal de Tanner, tras ajuste por la edad, altura, etnia, tipo de escáner y grasa magra total.¹⁴⁰ Sin embargo, en la Cohorte de Madrid no se ha encontrado diferencias significativas en la DMO respecto a la edad y el género, en concordancia a los resultados presentados en otros estudios.^{139, 148, 268}

El hipogonadismo se ha identificado como factor de riesgo en adultos infectados por VIH. En un estudio realizado en adolescentes infectados perinatalmente por VIH se observó una tendencia de menor Z-score de DMO en adolescentes con retraso puberal.¹⁴⁸ En la Cohorte de Madrid no se ha encontrado relación con el estadio puberal, similar a los resultados reportados por otros autores.¹³⁹

La raza negra se ha asociado con mejor DMO en algunos estudios realizados en infección pediátrica por VIH,^{144, 145} aunque no en todos los estudios han encontrado esta asociación.^{148, 149} Si lo comparamos con los resultados obtenidos en la Cohorte de Madrid, aunque la mayoría de los niños y adolescentes pertenecían a raza caucásica, no hubo diferencias en la DMO en relación con la etnia, más en concordancia con los resultados obtenidos por Schtscherbyna et al y Bunders et al.^{148, 149}

La lipodistrofia se ha asociado a menor DMO en adultos con infección por VIH²⁸³ y en un estudio en 40 niños infectados por VIH por transmisión vertical.¹⁴² En la Cohorte de Madrid, no se observó relación entre lipodistrofia clínica y DMO baja, acorde a los resultados obtenidos en un estudio previo realizado en nuestra población.²⁶⁸ Otro factor a tener en cuenta sería la alteración en la composición corporal, ya que la ganancia de masa grasa²⁸⁴ y la menor masa magra²⁸⁵ se han identificado como factores de riesgo de menor DMO en adultos infectados por VIH. Schtscherbyna et al¹⁴⁸ mostraron una correlación positiva de Z-score de DMO con la grasa corporal total (medida por DXA) en adolescentes infectados por VIH. Sin embargo, en la Cohorte de Madrid no se ha analizado la composición corporal, que podría ser objeto de investigaciones futuras.

La presencia de encefalopatía en la Cohorte de Madrid fue más frecuente en el grupo de pacientes con DMO baja (40% vs. 9,6%, $p=0,007$), factor que podría influir en la salud ósea debido a que la encefalopatía está relacionada con movilidad reducida. Sin embargo, el grado de encefalopatía fue variable, solo dos pacientes precisaban silla de ruedas (1 en el grupo de 15 pacientes con DMO baja y otro en el grupo de 83 pacientes con DMO normal) y la encefalopatía puede también reflejar la gravedad de la enfermedad. Tras ajuste por la talla, aunque la encefalopatía seguía siendo más frecuente en el grupo de DMO baja, la diferencia en DMO no fue estadísticamente significativa. Además, en los análisis multivariantes (con ZDMO y ZDMOtalla) la encefalopatía no se relacionó como un factor independiente.

El impacto del ejercicio físico no ha sido extensamente evaluado en el contexto de la infección pediátrica por VIH. DiMeglio et al encontraron mejores Z-scores de DMO en niños y adolescentes con infección por VIH con actividad física intensa,¹⁴⁴ mientras Lima et al no encontraron ninguna relación.¹⁴⁷ El ejercicio físico es importante para el desarrollo del hueso, un determinante del PMO,¹²⁵ y además es un factor modificable. Los resultados observados en la Cohorte de Madrid están limitados porque solo 66 de los 98 pacientes completaron cuestionarios sobre actividad física, encontrándose asociación significativa entre inactividad física y DMO baja. Sin embargo, esta asociación desaparece cuando se realiza ajuste por la talla.

Respecto a vitamina D, en la Cohorte de Madrid hay una alta prevalencia de hipovitaminosis D (77,2% vitamina D < 30 ng/mL y 32,6% < 20 ng/mL), similar a la

descrita en la mayoría de estudios publicados en niños y adolescentes infectados por VIH, con una prevalencia de insuficiencia de vitamina D (< 30 ng/mL) entre el 71% y el 97%.^{161, 162, 286, 287} En un estudio realizado en pacientes pediátricos con infección por VIH en Cataluña la prevalencia de insuficiencia de vitamina D fue significativamente menor (18%),²⁸⁸ probablemente debido a que las muestras en este estudio se extrajeron en los meses de verano, donde la exposición solar es mayor y por lo tanto podría haberse producido un incremento de vitamina D en los niños. Sin embargo, en el estudio presentado en esta Memoria, aunque casi dos tercios de las muestras se extrajeron en verano y otoño, la prevalencia fue similar a la mayoría de los estudios publicados y mayor que la mostrada por el grupo de Madrid et al en los niños catalanes.²⁸⁸ Además de los factores de riesgo para hipovitaminosis D comunes a la población general (ingesta insuficiente de vitamina D, exposición solar escasa, raza negra, obesidad), se han descrito factores relacionados con la infección por VIH (el uso de ITINN, en especial EFV, CV detectable, situación inmunológica deteriorada y duración de la infección por VIH) tanto en niños y adultos, aunque la evidencia es limitada.^{79, 161, 286, 287} De hecho, la prevalencia de hipovitaminosis D en niños infectados por VIH parece ser similar a la de niños sanos no infectados.^{161, 287, 288} Por lo tanto, no está claro si la infección por VIH constituye un factor de riesgo *per se* para la deficiencia de vitamina D. En la Cohorte de Madrid, la deficiencia de vitamina D se asoció al uso de ITINN, aunque no se encontró significación con el uso de EFV, a pesar de que la mayoría de los pacientes con un régimen basado en ITINN estaban con EFV, aunque sí se observó una tendencia. Además, la ingesta de vitamina D se correlacionó con los niveles de vitamina D. Este factor y probablemente los hábitos de nuestra sociedad, entre los que se encuentra un menor tiempo de exposición al sol, podrían favorecer la alta prevalencia de hipovitaminosis D. Aunque la prevalencia podría ser similar a la de la población general no VIH es de gran preocupación por el mayor riesgo de osteoporosis futura.

La vitamina D interviene en la absorción intestinal de calcio y fósforo, regula el metabolismo de ambos minerales y juega un papel esencial en la mineralización ósea.¹¹¹ Sin embargo, en la Cohorte de Madrid no se ha encontrado asociación entre DMO y vitamina D, acorde a otros estudios en infección VIH vertical pediátrica^{139, 148} y la mayoría de los estudios en adultos infectados por VIH.⁷⁹ Por otra parte, aunque un estudio reciente realizado por Arpadí et al en adultos naive ha demostrado que la

suplementación con vitamina D y calcio mitigaba la pérdida de DMO con el inicio del TAR, en niños infectados por VIH no se ha demostrado que la suplementación de vitamina D mejore la DMO, a pesar de ser eficaz en aumentar los niveles de vitamina D.²⁸⁹

La PTH regula la homeostasis del metabolismo de calcio y se eleva si existe déficit de vitamina D (hiperparatiroidismo secundario). Un aumento de PTH conduce a la estimulación de osteoclastos y al aumento del turnover óseo, con movilización de calcio del hueso y con reducción de la masa ósea.¹¹¹ En la Cohorte de Madrid, los niveles de PTH se correlacionaron negativamente con los niveles de vitamina D, además todos los pacientes con PTH elevada (> 65 pg/mL) tenían niveles de subóptimos de vitamina D (< 25 ng/mL) y los pacientes con deficiencia de vitamina D (< 20 ng/mL) tenían niveles mayores de PTH, lo que sugiere un hiperparatiroidismo secundario. Niveles elevados de PTH se han asociado a uso de TDF y a deficiencia de vitamina D en adultos infectados por VIH.²⁹⁰⁻²⁹⁶ En la cohorte tailandesa de adolescentes infectados por VIH perinatalmente también se observó que los pacientes con deficiencia de vitamina D tenían niveles mayores de PTH,¹⁶² similar a nuestros resultados, lo que probablemente refleja un mecanismo compensatorio para regular el metabolismo del calcio. Respecto a TDF, en la Cohorte de Madrid no ha observado asociación entre TDF y PTH. Sin embargo, Havens et al demostraron que la suplementación de vitamina D en jóvenes infectados por VIH de edades comprendidas entre 18 y 24 años de edad que recibían TDF (sólo el 12% infectados por VIH por transmisión vertical) fue eficaz para disminuir los niveles de PTH, independientemente de la concentración inicial de vitamina D.²⁹⁶

En cuanto a la relación entre PTH y DMO, en la Cohorte de Madrid ZDMOtalla se correlacionó con los niveles de PTH y los pacientes con PTH elevada (> 65 pg/mL) tenían menor ZDMOtalla. Los pacientes con DMO baja (sin y con ajuste por talla) presentaban niveles mayores de PTH y mayor prevalencia de PTH > 65 pg/mL, pero no se alcanzó la significación estadística. Revisando la literatura, escasos estudios en adultos infectados por VIH han mostrado asociación de hiperparatiroidismo con DMO baja.^{160, 297} En infección vertical por VIH, un estudio reciente realizado en 394 adolescentes tailandeses infectados por VIH perinatalmente demostró asociación entre

hipovitaminosis D complicada con hiperparatiroidismo secundario y DMO baja,²⁹⁸ contrario a estudios previos.^{139, 148}

Respecto a la fosfatasa alcalina sérica, que es un marcador de metabolismo óseo, aunque menos específico que la fosfatasa alcalina ósea, tampoco se ha observado relación con DMO, acorde a los resultados previamente publicados por Puthanakit et al.¹³⁹

Existe evidencia de asociación de DMO baja y el TAR. En un metaanálisis en adultos, los pacientes infectados por VIH en TAR tenían 2,5 veces más riesgo de DMO reducida que los pacientes naive.¹³⁰ Así mismo, una menor exposición al TAR a través de interrupciones programadas se ha asociado con mejor DMO, sugiriendo el impacto negativo del TAR en el hueso.²⁹⁹ Comparado con el TAR continuo, el TAR intermitente se ha asociado con una reducción de los marcadores de remodelado óseo y aumento de la DMO en el estudio SMART.³⁰⁰ Solo hay un estudio en infección vertical por VIH que compara la DMO en 5 niños naive y 35 niños en TAR, incluyendo un grupo control de 314 niños sanos no infectados, observando menor DMO en aquellos niños con infección VIH en TAR y no encontrando diferencias en los valores de DMO entre niños sanos y niños con infección VIH naive al TAR.¹⁴² En nuestra cohorte todos los pacientes estaban en TAR, excepto uno, que no era naive al TAR.

El inicio de TAR en el adulto se ha asociado a pérdida de DMO,^{163, 164} seguido de estabilización posterior,¹⁶⁵ que se ha relacionado con aumento del catabolismo óseo,¹⁶⁶ y se ha sugerido que es debido a reconstitución del sistema inmune. En la población pediátrica, no se dispone de estudios que evalúen el impacto de inicio del TAR en niños naive. Gafni et al evaluó los cambios en la DMO en un grupo de 15 niños y adolescentes que precisaron cambio de TAR por fracaso virológico, recibiendo TDF dentro del TAR y observando descenso de la DMO con estabilización posterior.¹⁷⁴ En una cohorte pediátrica estadounidense observaron menor DMO a mayor tiempo de TAR,¹⁴⁴ mientras que en otro estudio longitudinal el aumento de la DMO se asoció a mayor duración de TAR ajustado por IMC, porcentaje de CD4⁺ y CV.¹⁴⁹ En la Cohorte de Madrid los pacientes se encontraban en TAR desde hace tiempo (mediana de 12 años), la mayoría en situación estable, por lo que en esta Memoria no se ha podido evaluar el efecto del inicio de tratamiento y la relación con la DMO. En nuestra cohorte

no se ha observado ninguna relación entre DMO y la duración de la exposición acumulada a ARV ni con la edad de inicio del TAR o del TARGA.

Dentro de los diferentes ARV, la disminución de la DMO se ha asociado con mayor frecuencia a TDF e IP. En esta Memoria, se ha encontrado una asociación entre DMO baja y mayor exposición a IP y al uso actual de IP potenciado, sin embargo la significación desaparece cuando se realiza ajuste por la talla. En varios estudios realizados en pacientes infectados por VIH por transmisión vertical, los IP (sobre todo si son potenciados con RTV)^{135, 140, 144, 147} se han asociado a menor DMO, aunque se desconoce el posible mecanismo de acción. Un estudio demostró que los IP inducen senescencia de los precursores de los osteoblastos y alteran su capacidad para diferenciarse en osteoblastos.³⁰¹ Además, en adultos los IP (sobre todo LPV/r) se han identificado como factor predictivo de riesgo de fractura osteoporótica.¹⁷² Por lo tanto, se precisan más estudios a largo plazo que clarifiquen el efecto de los IP sobre el hueso.

El TDF se ha asociado a pérdida de DMO en adultos^{167, 169-171} y mayor riesgo de fractura.¹⁷² En pediatría los datos no son consistentes.¹⁷³⁻¹⁷⁷ Solo dos estudios son comparados, en uno observaron mayor descenso de DMO durante las primeras 24 semanas de tratamiento con TDF comparado con el grupo sin TDF, con estabilización posterior.¹⁷⁵ En el otro estudio no hubo cambios significativos en la DMO durante el seguimiento respecto al grupo con placebo, aunque el porcentaje de pacientes con descenso significativo de la DMO lumbar (> 4%) fue mayor en el grupo de TDF sin llegar a alcanzar la significación estadística.³⁰² En los estudios de Gilead (321 y 352) se observó menor tasa de aumento de DMO a la semana 48 en el grupo de adolescentes entre 12 y ≤ 18 años de edad que recibían TDF comparado con adolescentes con placebo, y menor aumento de DMO a nivel corporal total en el grupo de niños entre 2 y ≤ 12 años de edad que recibían TDF respecto al grupo con d4T o ZDV, aunque similar ganancia de DMO a nivel de la columna lumbar.³⁰³ En la cohorte brasileña, los adolescentes que recibían TDF tenían menor DMO, y el tiempo de exposición a TDF se correlacionó inversamente con el Z-score de DMO.¹⁴⁸ En la Cohorte de Madrid, a pesar de que el 27% de los pacientes recibían TDF en el momento de DXA (y el 33% tenían exposición previa), no se encontró relación entre DMO y TDF, acorde a los resultados de otras cohortes de infección por VIH perinatal.^{135, 139, 144, 149} Sin embargo, hay que tener en cuenta que la Cohorte de Madrid la exposición a TDF es relativamente corta

(mediana de 2 años) por lo que serían necesarios estudios longitudinales para evaluar a largo plazo los efectos de TDF en un hueso en crecimiento. Recientemente, hay datos de que el uso de TDF en la madre gestante se asocia a menor CMO en los neonatos en un estudio realizado en E.E.UU.,³⁰⁴ lo que aporta evidencia del impacto negativo que podría tener el TDF en el hueso en crecimiento. Sin embargo, los mismos autores en un estudio posterior en África no observaron efecto en la CMO en los neonatos asociado al uso materno de TDF durante la gestación.³⁰⁵

El tenofovir alafenamida (TAF) es un nuevo profármaco del TDF, que consigue mayores niveles intracelulares y menores en plasma (>90% de reducción) con la consiguiente menor exposición renal y ósea a TDF. Recientemente, se ha demostrado en un ensayo clínico aleatorizado en 1.196 pacientes adultos infectados por VIH con supresión viral que recibían un régimen con TDF que el cambio a TAF/FTC/EVG/Cobicistat mejoraba significativamente la DMO a las 48 semanas de tratamiento (+1,86% de cambio en el grupo con TAF/FTC/EVG/Cobicistat vs. -0,11% en el grupo que se mantenía con un régimen basado en TDF, $p < 0,001$).³⁰⁶ El hecho de que mejore la DMO indica que el hueso se halla sometido a una presión, probablemente con un turnover óseo aumentado. De momento, este nuevo profármaco solo ha sido aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. ("US Food and Drug Administration", FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos ("European Medicines Agency", EMA) para adultos y adolescentes mayores de 12 años de edad como TAF/FTC/EVG/Cobicistat. Sin embargo, actualmente están en marcha también estudios en niños infectados por VIH. De confirmarse su seguridad sobre el hueso a largo plazo, constituiría una buena alternativa a TDF en niños y adolescentes.

Otros ARV que se han asociado a menor DMO en pediatría son lamivudina¹⁴⁴ y estavudina.¹³⁵ En la Cohorte de Madrid, el 44% de los pacientes recibían lamivudina en el momento de la DXA y no hubo asociación significativa con Z-score de DMO, sin y con ajuste por la talla. Solo un paciente recibía estavudina y tenía Z-score de DMO -0,4 y tras ajuste por la talla 0,1. No se ha encontrado asociación entre DMO baja y los nuevos ARV como maraviroc, raltegravir o darunavir.

Por otra parte, se ha descrito DMO baja también en pacientes adultos naive a TAR,¹⁷⁹ sugiriendo un papel del virus y de la infección crónica. Hay estudios *in vitro* que

sugieren que las proteínas virales son capaces de aumentar la actividad de osteoclastos,¹⁸⁶ la diferenciación de los osteoclastos,¹⁸⁷ y alterar la función de osteoblastos.¹⁸⁸ En niños y adolescentes con infección por VIH perinatal, DMO baja se ha asociado a estadio avanzado de la infección,^{139, 143, 145} pico de CV alto¹⁴⁹ y linfocitos T CD4⁺ bajos^{149, 150}, aunque no son consistentes en todos los estudios publicados. En nuestra cohorte, no se ha detectado asociación con el estadio clínico, linfocitos T CD4⁺ y CV en el momento de la DXA, acorde a los resultados publicados en otros trabajos.^{147, 148}

Sin embargo, el antecedente de inmunodepresión grave (estadio inmunológico CDC 3, nadir de CD4 bajo, mayor tiempo acumulado de CD4⁺ < 200) en la Cohorte de Madrid se asoció a peor DMO. De hecho un menor nadir de CD4 fue factor predictor independiente de menor Z-score de DMO sin y con ajuste por la talla, lo que es consistente con estudios previos realizados en adultos^{157, 182, 183} y que indica el posible papel del sistema inmunológico en la patogénesis de la disminución de la DMO en la infección por VIH. El efecto del nadir de CD4 sobre el hueso se podría explicar porque la inmunodepresión se ha asociado a disfunción inmune y citoquinas proinflamatorias,³⁰⁷ que podría producir pérdida de DMO. Es interesante resaltar que en adultos un nadir de CD4 bajo se ha asociado a un aumento del riesgo de fractura.¹³¹ Además, nadir de CD4 ha sido factor predictor de otras comorbilidades no SIDA, como aterosclerosis,³⁰⁸ infarto miocárdico³⁰⁹ o alteración cognitiva.³¹⁰ Estos hallazgos señalan la importancia de iniciar el TAR precozmente para evitar el deterioro inmunológico y así reducir las posibles consecuencias del riesgo de osteoporosis futura.

Otro hallazgo interesante de esta Memoria es la correlación positiva entre el cociente CD4/CD8 y el Z-score de DMO, sin y con ajuste por la talla, aunque no persistió significativo en el análisis multivariante, ni se halló asociación con la inversión del cociente. Recientemente hay cada vez más evidencia sobre el papel del cociente CD4/CD8 como biomarcador de VIH. A pesar de un TAR efectivo, con recuperación inmunológica y supresión viral, una parte de los pacientes tienen persistentemente un cociente CD4/CD8 bajo.³¹¹ Este cociente CD4/CD8 bajo se ha asociado a disfunción inmune,³¹² activación y senescencia de linfocitos T,^{311, 313} marcadores de enfermedad asociada a la edad,³¹⁴ eventos no SIDA y mortalidad^{311, 315, 316} en pacientes adultos con infección por VIH. En niños y jóvenes infectados por VIH por transmisión vertical

también se ha asociado la inversión del cociente CD4/CD8 a mayor frecuencia de activación, senescencia y agotamiento inmune.³¹⁷ En nuestra cohorte se ha observado una correlación inversa del cociente CD4/CD8 con senescencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺. Sobre el hueso, existe escasa evidencia sobre la relación entre el cociente CD4/CD8 y la DMO. En adultos con infección por VIH naive al TAR, Gazzola et al no detectaron asociación entre el cociente CD4/CD8 y DMO baja.¹⁹² No hay datos publicados en infección pediátrica, excepto el estudio presentado en esta Memoria. Dado que el cociente CD4/CD8 es un biomarcador de medición fácil, se precisan más estudios que exploren la posible relación de este marcador con la enfermedad ósea en el contexto de la infección por VIH.

6.2. ACTIVACIÓN, SENESCENCIA E INFLAMACIÓN

A pesar del aumento de la supervivencia debido al TAR, los pacientes con infección por VIH presentan mayor riesgo de morbilidad no infecciosa como enfermedad cardiovascular, hipertensión, diabetes, insuficiencia renal y fracturas óseas que la población general y con aparición a edad más temprana.⁶³ Dado que estas patologías se asocian a la edad, se ha sugerido que los pacientes con VIH sufren un envejecimiento precoz o acelerado.^{247, 318}

La infección por VIH se caracteriza por activación del sistema inmune e inflamación crónica, parcialmente reversible por el TAR.^{208, 234, 319} Además parte de las alteraciones en linfocitos T que ocurren en el envejecimiento fisiológico son similares a aquellas asociadas a la infección por VIH (inmunosenescencia).^{246, 247}

El envejecimiento se caracteriza por una inflamación persistente de bajo grado y este fenómeno se ha denominado "inflammaging". "Inflammaging" es un proceso que se acompaña de mayor morbilidad y mortalidad en la población general de edad avanzada aunque no todas las patologías asociadas a la edad comparten la inflamación en su patogénesis.³²⁰ Por lo tanto, la infección por VIH comparte con el envejecimiento tanto patrones de senescencia inmune como inflamación crónica ("inflammaging").

Tanto la inflamación crónica, la activación inmune y la inmunosenescencia se han implicado en modelos de la patogénesis de comorbilidades no SIDA asociadas a la edad.^{207, 246, 247} Diferentes estudios han demostrado que la activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se asocia a enfermedad cardiovascular,²²⁶⁻²²⁸ alteraciones neurocognitivas²²⁹ y menor capacidad funcional en adultos infectados por VIH.²³⁰ Así mismo, la senescencia de linfocitos T CD8⁺ (CD28⁻CD57⁺) se ha asociado a enfermedad cardiovascular subclínica.^{226, 227} En un estudio en pacientes VIH suprimidos virológicamente un índice combinado de marcadores de senescencia y activación de linfocitos T se asoció a comorbilidades no SIDA de manera independiente.³²¹ Marcadores de activación de monocitos como CD14s se han relacionado con enfermedad cardiovascular subclínica.^{322, 323} Por otra parte, marcadores de inflamación sérica se han asociado a mayor riesgo de morbilidades no SIDA,^{235, 236} enfermedades no SIDA asociadas a la edad,²³⁷ enfermedad cardiovascular²³⁸ y cáncer.²³⁹

Así como en otras comorbilidades no SIDA, se ha postulado que la inflamación crónica y la activación inmune también contribuyen a la disminución de la DMO en la infección por VIH.^{207, 247}

Dado que la osteoporosis es una enfermedad asociada a la edad y que en la infección por VIH se ha objetivado senescencia prematura del sistema inmune²⁴⁶ y mayor prevalencia de DMO baja¹³⁰ y fracturas óseas,^{63, 131} la senescencia inmune podría contribuir a la patogénesis de la disminución de DMO en la infección por VIH.

La osteoporosis no se ha considerado hasta ahora como enfermedad relacionada con el sistema inmune, sin embargo cada vez hay más datos sobre la interfaz entre el sistema inmune y el hueso, la osteoinmunología. Las células de ambos sistemas comparten orígenes comunes, ya que los osteoblastos proceden de células madre mesenquimales, los osteoclastos de células madre hematopoyéticas y comparten su linaje con los monocitos y los macrófagos. Además, varias citoquinas producidas por células del sistema inmune como linfocitos, macrófagos y células dendríticas tienen efecto tanto sobre los osteoclastos, generalmente a través de la vía RANK/RANKL/OPG, como sobre los osteoblastos.¹¹³

Cuando se activan los linfocitos T, B, y los macrófagos se liberan citoquinas proinflamatorias, muchas de las cuales son mediadoras en la osteoinmunología. Se ha demostrado que en condiciones inflamatorias, las células T y B activadas producen RANKL que induce resorción ósea.³²⁴⁻³²⁶ El sistema RANK/RANKL/OPG juega un papel importante en el remodelado óseo, siendo RANKL esencial para la diferenciación y activación de los osteoclastos. Además de RANKL, la activación de linfocitos T desencadena liberación de TNF- α , IL-1 e IL-17, que producen estimulación de osteoclastos y las dos primeras además inhibición de osteoblastos. Por otra parte, los monocitos/macrófagos activados segregan TNF- α , IL-1 e IL-6, que pueden inhibir osteoblastos y activar osteoclastos, desequilibrando la balanza hacia una mayor resorción ósea.¹¹³

Por lo tanto, la activación del sistema inmune podría contribuir a la disminución de la DMO en la infección por VIH a través de la liberación de citoquinas que inducirían la osteoclastogénesis.¹⁹¹ De hecho, los linfocitos T activados se han relacionado con la pérdida de masa ósea en patologías como la osteoporosis posmenopáusica,³²⁷ enfermedad periodontal³²⁵ y en un modelo de rata con artritis reumatoide.³²⁶

Además, es de gran interés que citoquinas proinflamatorias y prorresortivas como IL-6, IL-1 y TNF- α , sean además citoquinas relacionadas con el "inflammaging".^{113, 320}

En el contexto de la infección por VIH, existen muy pocos estudios que evalúan el papel de la activación y senescencia del sistema inmune y la inflamación crónica en la patogénesis de la DMO baja, con resultados no concluyentes.¹⁹²⁻¹⁹⁴

Además, no hay datos sobre la relación entre la senescencia y activación inmune en la infección por VIH por transmisión vertical, que tiene la particularidad de preservar mejor función tímica y de que el sistema inmune se ha ido desarrollado bajo la exposición al VIH al menos desde el nacimiento.

En esta Memoria se ha investigado si la DMO baja en los niños, adolescentes y jóvenes con infección por VIH por transmisión vertical está relacionada con un fenotipo de linfocitos T periféricos que indica activación y senescencia del sistema inmune.

Contrario a la hipótesis del estudio los pacientes con DMO baja en la Cohorte de Madrid mostraron menor activación de linfocitos T CD8⁺, aunque este dato no fue significativo tras ajuste por la talla ni en el análisis multivariante. Kapetanovic et al³²⁸ demostraron que la activación de linfocitos T CD8⁺ estaba asociada a mejor resultado cognitivo en niños infectados por VIH perinatalmente, contrario a estudios previos³²⁹ y a la evidencia publicada en adultos.²²⁹ Kapetanovic et al³²⁸ sugieren que el efecto citotóxico de los linfocitos T CD8⁺ activados podría ser beneficioso cuando la función tímica está preservada y hay niveles altos de linfocitos T circulantes. Haciendo una translación de este concepto al hueso, podría ser que el efecto de la activación de linfocitos T CD8⁺ fuera positivo en el tejido óseo. Sin embargo, la posible asociación favorable de activación de linfocitos T CD8⁺ y DMO baja podría ser también resultado de factores de confusión, como sugiere el hecho de la pérdida de significación estadística en el análisis multivariante.

Tras ajuste por la talla, no se encontró relación entre el Z-score de DMO y una mayor frecuencia de activación de linfocitos T CD8⁺ ni CD4⁺, acorde a los resultados presentados por Erlandson et al,¹⁹⁴ y contrario a los hallazgos de Gazzola et al¹⁹² y Brown et al.¹⁹³ Solo se han encontrado tres estudios que hayan evaluado la activación inmune y la DMO en la infección por VIH. Gazzola et al demostró que la activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ definida como HLADR⁺ era un factor predictor independiente de DMO baja tras ajuste por factores demográficos (edad, sexo, IMC) y relacionados con la infección VIH (coinfección por VHC, nadir de CD4, tiempo de TARGA) en 62 pacientes adultos infectados por VIH, la mayoría en TAR y suprimidos virológicamente.¹⁹² Sin embargo, no encontraron asociación con DMO baja cuando analizaron la activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ definida como la coexpresión de HLADR⁺ y CD38⁺. Erlandson et al¹⁹⁴ no observaron asociación entre DMO y activación de linfocitos T (HLADR⁺CD38⁺) en 142 pacientes adultos con infección por VIH en TAR estable. En un tercer estudio (ACTG5260s) Brown et al³³⁰ no encontraron asociación entre DMO baja y niveles de activación inmune a nivel basal en 331 pacientes con infección VIH naive, sin embargo tras inicio del TAR los niveles basales de activación de linfocitos T CD4⁺ fueron un factor predictor independiente de pérdida de DMO a nivel lumbar.¹⁹³ Aunque los tres estudios se llevaron a cabo en pacientes adultos, la Cohorte de Madrid se comportó de forma más similar a la de Erlandson et al,¹⁹⁴ dado que todos menos uno estaban en TAR estable. En el estudio de Gazzola et al¹⁹²

el 26% de los pacientes eran naive al TAR, el tamaño muestral era menor y hay que destacar que no hallaron asociación cuando analizaron la activación inmune como la coexpresión de HLADR⁺ y CD38⁺. Sin embargo, este estudio tiene la fortaleza de que la activación inmune fue un factor predictor independiente en el análisis multivariante ajustado por potenciales factores de confusión. Dado los hallazgos de Brown et al,¹⁹³ donde los niveles basales de activación de linfocitos T CD4⁺ (previos al inicio de TAR) fueron factor predictor de pérdida de DMO a las 96 semanas y considerando que el TAR disminuye la activación (aunque sigue permaneciendo elevada respecto a los individuos no infectados), podría ser posible que niveles previos de activación inmune influyeran en la DMO en los pacientes infectados por transmisión vertical de la Cohorte de Madrid, sin que lo hayamos podido detectar.

Respecto a la senescencia inmune, no se encontró relación entre la porcentaje de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ senescentes y la DMO en la Cohorte de Madrid, acorde con los dos únicos estudios previamente publicados que evalúan dicha relación.^{192, 193} No hubo diferencias en la frecuencia de linfocitos T CD4⁺ ni CD8⁺ senescentes (CD28⁻CD57⁺) entre pacientes con DMO baja y pacientes con DMO normal en un estudio realizado en 62 individuos adultos infectados por VIH, la mayoría en TAR.¹⁹² Además, cambios en la DMO con el inicio del TAR en 328 pacientes adultos infectados por VIH naive tampoco se asociaron a niveles de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ senescentes (CD28⁻CD57⁺) basales previos al inicio del TAR.¹⁹³ Sin embargo, en este último estudio se observó una relación significativa entre la pérdida de DMO a nivel lumbar tras 96 semanas de TAR y marcadores de senescencia-agotamiento inmune en linfocitos T CD4⁺ (CD28⁻CD57⁺PD1⁺) basales, lo que aporta evidencia de que hay ciertos fenotipos de senescencia inmune que podrían estar implicados en la disminución de la DMO.

Alternativamente, se ha descrito que la senescencia replicativa de las células osteogénicas circulantes podría contribuir a la DMO baja en varones adultos infectados por VIH por transmisión vertical.³³¹ Por lo que otra posibilidad sería que la senescencia de las células osteogénicas y no la senescencia de los linfocitos T periféricos estuviera implicada en la disminución de la DMO.

Una posible explicación para la ausencia de asociación entre activación y senescencia inmune con la DMO en la Cohorte de Madrid de niños y adolescentes infectados por

VIH es que el tamaño muestral es pequeño, por lo que serían necesarios nuevos estudios con un mayor número de pacientes para poder demostrar o refutar esta hipótesis. Además, en nuestra cohorte se ha determinado la activación y senescencia inmune en los pacientes en un momento concreto, y se desconoce si los resultados obtenidos presentan oscilaciones o no. También podría ser que en la infección por VIH por transmisión vertical el mecanismo de disminución de la DMO sea diferente.

Sin embargo, aunque no se ha encontrado relación estadísticamente significativa entre la DMO y activación y senescencia inmune tras ajuste por la talla, el hecho de que si haya relación significativa entre otros marcadores inmunológicos como el nadir de CD4, indica que el sistema inmune podría estar implicado en la patogénesis de la disminución de la DMO en la infección por VIH. Por otra parte, el cociente CD4/CD8 se ha asociado de manera independiente a la activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ y senescencia de linfocitos T CD8⁺ ajustado por edad, tiempo de supresión viral, CV indetectable, tiempo de TAR y nadir de CD4 en un estudio realizado en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.³¹⁷ Por lo que la correlación entre el cociente CD4/CD8 y el Z-score de DMO en el estudio de esta Memoria podría indicar asociación indirecta de la DMO baja con activación y senescencia inmune.

Además en esta Memoria se ha estudiado la relación entre marcadores de inflamación y la DMO en un subgrupo de adolescentes y niños infectados por VIH por transmisión vertical.

En contra de lo esperado, no se ha observado una correlación significativa entre la DMO y los marcadores séricos IL-6 y PCRhs de inflamación y el marcador CD14s de activación de monocitos, probablemente debido a que el tamaño muestral fue tan solo de 24 pacientes. Estos marcadores traducen un estado inflamatorio sistémico, además el CD14s es un marcador de activación de monocitos, y también marcador indirecto de translocación bacteriana.³³² Específicamente la IL-6 y la PCRhs se han relacionado con la desmineralización ósea en la población general.^{333, 334} En la infección por VIH, un estudio longitudinal reciente realizado en adultos naive al TAR observó que la DMO disminuía a los 12 meses y que esta disminución no se producía en los controles, y que niveles basales elevados de IL-6 se asociaban de forma independiente a mayor progresión a osteopenia u osteoporosis en el grupo de individuos infectados por VIH,³³⁵

sugiriendo que la inflamación está implicada en la pérdida de DMO. Tampoco encontraron relación con otros marcadores como PCRhs ni CD14s. Brown et al no observaron asociación entre DMO baja y los marcadores de inflamación PCRhs e IL-6 en adultos naive, a nivel basal.²⁸⁵ Sin embargo, niveles basales elevados de IL-6, PCRhs y CD14s se asociaron significativamente con mayor pérdida de DMO a nivel de cadera tras iniciar el TAR en estos mismos individuos adultos naive, aunque no a nivel lumbar.¹⁹³ Otro estudio previo realizado en individuos adultos infectados por VIH en TAR estable no encontró relación entre la DMO y CD14s, marcador de activación de monocitos e IL-6, PCRhs, TNF α , marcadores séricos de inflamación.¹⁹⁴ En la población pediátrica infectada por VIH se ha descrito una correlación negativa entre la DMO volumétrica e IL-6 en 30 niños prepuberales infectados por VIH por transmisión vertical.³³⁶ Se necesitan más estudios para aclarar el papel de la inflamación crónica en la enfermedad ósea en la infección por VIH, especialmente en la transmisión vertical.

Como se ha mencionado con anterioridad, la activación inmune y la inflamación crónica podrían contribuir a la desmineralización ósea, a través del sistema RANKL. Los linfocitos activados segregan RANKL y las citoquinas IL-6, TNF e IL-1 que estimulan RANKL promueven la resorción ósea. En esta Memoria no se ha evaluado el papel de RANKL en relación con la DMO baja. En el contexto de la infección por VIH, se han descrito alteraciones del cociente RANKL/OPG en pacientes adultos naive con DMO baja³³⁷ y en niños infectados perinatalmente en TAR comparados con niños sanos.¹⁴¹ En un modelo *in vivo* en ratas transgénicas VIH se observó disminución de la DMO y del volumen óseo, aumento de la resorción ósea por osteoclastos y alteración del ratio RANKL/OPG.³³⁸ Este desequilibrio en el cociente RANKL/OPG en el modelo de ratas transgénicas se confirmó en un estudio posterior en pacientes VIH naive, donde se observó una expresión aumentada de RANKL y disminuida de OPG por parte de linfocitos B circulantes, que se traduce en un aumento de la osteoclastogénesis, que a su vez se correlacionó con la disminución de la DMO en pacientes VIH. Estos datos sugieren el papel que juega la disfunción de los linfocitos B en la disminución de la DMO en la infección por VIH.³³⁹ Sin embargo, otros estudios realizados en pacientes adultos en TAR no han encontrado relación entre la DMO y RANKL.^{192, 194}

6.3. VITAMINA D Y ACTIVACIÓN Y SENESCENCIA INMUNE

Además de las funciones sobre el metabolismo del calcio y hueso, la vitamina D se ha implicado como modulador del sistema inmune, como se ha referido en la introducción.

En la infección por VIH la deficiencia de vitamina D se ha asociado a mayor riesgo de mortalidad y eventos SIDA,³⁴⁰ inflamación^{341, 342} y peor reconstitución del sistema inmune en individuos adultos.³⁴³

En esta Memoria se ha analizado si había relación entre los niveles de vitamina D y los marcadores de activación y senescencia de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.

En la Cohorte de Madrid, no se ha encontrado una asociación significativa entre vitamina D y activación de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ definida como la coexpresión de HLADR⁺CD38⁺. Sin embargo, se ha observado una correlación inversa entre vitamina D y activación de linfocitos T CD4⁺ definida como CD38⁺ y activación de linfocitos T CD8⁺ definida como HLADR⁺. En un estudio realizado en adultos infectados por VIH en TAR y supresión viral, los pacientes con deficiencia de vitamina D grave (<12 ng/mL) presentaban una mayor activación de linfocitos T CD8⁺ memoria (CD38⁺) que aquellos con vitamina D normal y tras suplementación con vitamina D aumentaron los niveles de vitamina D y disminuyó la activación de linfocitos T CD8⁺.³⁴⁴ Este estudio aporta evidencia del potencial beneficio de la suplementación con vitamina D en la reducción de la activación del sistema inmune. Dado que la activación inmune crónica se ha asociado a mayor mortalidad,^{223, 225} mayor progresión a SIDA,^{220, 221} y comorbilidades no SIDA,^{226, 229} la vitamina D podría ser beneficiosa en reducir la tasa de las complicaciones y comorbilidades, lo cual deberá analizarse en ensayos clínicos controlados. Sin embargo, en otro estudio realizado en varones adultos infectados por VIH no se observaron cambios en las subpoblaciones de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ activados, CD4⁺ y CD8⁺ naive y linfocitos T_{Reg} con la suplementación de vitamina D comparado con placebo. Aunque el aumento en los niveles de vitamina D se asoció con una expansión de linfocitos T CD4⁺ activados y de linfocitos T_{Reg}.³⁴⁵ En la infección VIH por transmisión vertical, la suplementación de vitamina D durante 12 meses no

tuvo efectos en el recuento de linfocitos T CD4⁺ pero se asoció a cambios en el fenotipo de linfocitos T CD4⁺, con descenso del cociente Th17: T_{Reg} en un ensayo clínico aleatorizado controlado.³⁴⁶ Dado que la vitamina D induce las subpoblaciones de linfocitos T_{Reg}, podría influenciar en la activación inmune ya que los T_{Reg} son capaces de inhibir la actividad inmune. Otro mecanismo por el que la vitamina D podría regular la activación inmune es por su posible efecto anti-inflamatorio.³⁴⁷

En esta Memoria, los pacientes con deficiencia de vitamina D mostraron menor proporción de linfocitos T CD8⁺ senescentes (CD57⁺CD28⁻) que los pacientes sin deficiencia de vitamina D. Se observó una tendencia a correlación positiva entre los niveles de vitamina D y la frecuencia de linfocitos T CD8⁺ senescentes (p=0,071). Este hallazgo es acorde a un estudio realizado en población general en mujeres sanas de más de 60 años donde niveles más altos de vitamina D se correlacionaron con la disminución de linfocitos T CD8⁺ naive, sugiriendo que niveles elevados de vitamina D podrían acelerar la senescencia de los linfocitos T CD8⁺.³⁴⁸ Dentro de las células del sistema inmune, los linfocitos T CD8⁺ son los que tienen mayor concentración de receptor de vitamina D.²⁵⁶ Por lo tanto, podría ser que la vitamina D esté modulando el paso de linfocitos naive a linfocitos efectores y senescentes. Sin embargo, estos mismos investigadores no encontraron diferencias en la proporción de linfocitos T CD8⁺ senescentes definidos como CD28⁻CD95⁺ entre el grupo de pacientes con vitamina D baja y el grupo con vitamina D normal.³⁴⁸ Además, otros estudios observaron una correlación entre la vitamina D y la longitud de los telómeros de los leucocitos,^{349, 350} que sugiere el papel protector de la vitamina D en el envejecimiento, que probablemente sea debido a su efecto antiinflamatorio y antioxidante. En la infección por VIH, en un estudio realizado en individuos adultos en TAR y supresión viral no se detectaron diferencias en la frecuencia de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ senescentes (CD57⁺) entre los pacientes con vitamina D < 12 ng/mL y los pacientes con vitamina D ≥ 30 ng/mL.³⁴⁴ Por lo que podría ser que el hallazgo de asociación entre deficiencia de vitamina D y menor senescencia de linfocitos T CD8⁺ en esta Memoria fuera el resultado de factores de confusión. Se precisan más estudios para determinar el papel de la vitamina D como inmunomodulador y el potencial beneficio de la suplementación en individuos con infección por VIH por transmisión vertical.

6.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El estudio realizado en esta Memoria tiene varias limitaciones. La primera, que es un estudio de corte transversal. Los pacientes incluidos son en parte heterogéneos, la mayoría de ellos se encontraban en una fase estable de la enfermedad, y teniendo en cuenta que el metabolismo del hueso es un proceso dinámico, el diseño de corte transversal puede no ser capaz de detectar cambios en la DMO y/o en la activación y senescencia inmune a lo largo del tiempo.

La segunda, que el tamaño muestral del subgrupo de pacientes incluidos en el estudio de inmunofenotipado es pequeño, lo que limita la capacidad para detectar asociaciones. Sin embargo, hasta lo que se conoce, es el primer estudio que analiza la relación entre la inmunosenescencia y activación inmune y la DMO en pacientes infectados por VIH por transmisión vertical.

Además, las limitaciones ya mencionadas de la DXA para la estimación de la verdadera DMO, incluso tras ajuste por la talla, complican la interpretación de los resultados. Este hecho podría haberse compensado con la inclusión de un grupo control. El método de ajuste por Z-score de talla propuesto por Zemel et al²⁶³ no ha sido validado para la población española y se ha previsto para escáneres Hologic. Sin embargo, es el método recomendado por ISCD⁹¹ y la mayoría de nuestros pacientes fueron evaluados por Hologic. Tras ajuste por la talla por este método, el número de pacientes con DMO baja fue pequeño (4 vs. 94), lo que limitó también la capacidad de detectar asociaciones.

Aunque los valores de la DMO obtenidos por DXA pueden variar según el tipo de escáner empleado (Hologic o Lunar), se ha utilizado siempre para el análisis el Z-score de DMO, que representa ya el ajuste por la edad y sexo, y ha sido proporcionado por los softwares de cada escáner y en el caso de no, se calculó con bases de referencia acordes al tipo de escáner, edad y sexo. Dado que no existe disponible una base de datos de referencia para escáner Lunar para población pediátrica de raza negra, se utilizaron en 8 niños de raza negra la base de referencia de niños españoles, que son de raza blanca, y este hecho ha podido sobreestimar la prevalencia de DMO baja en niños de raza negra en este estudio, aunque eran muy pocos casos, ya que la mayoría fueron analizados con Hologic, para el cual existe base de datos de referencia.

Por último, en el contexto de múltiples factores y frecuentemente interrelacionados entre sí, es difícil de separar el efecto en la DMO de cada una de las variables estudiadas.

7. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de DMO baja en la cohorte de 98 niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical en la Comunidad de Madrid fue moderada (15%), disminuyendo al 4% tras ajuste por la talla.
2. Aunque la prevalencia de DMO baja tras ajuste por la talla sea del 4%, un número significativo de niños y adolescentes en nuestro estudio presentaron DMO reducida para la edad considerando $\leq -1,5$ (14%).
3. En esta Memoria se han encontrado varios factores asociados a DMO baja lo que sugiere que la patogénesis de la disminución de DMO en la infección por VIH por transmisión vertical es probablemente multifactorial. Un menor Z-score de DMO tras ajuste por la talla se asoció a menor Z-score de IMC, antecedente de inmunosupresión grave (menor nadir de CD4, mayor tiempo acumulado con linfocitos T CD4⁺ <200 y estadio inmunológico CDC 3), menor cociente CD4/CD8 y mayores niveles de PTH.
4. Un nadir de CD4 bajo es un factor independiente predictor de DMO baja ajustado por la talla.
5. No se ha encontrado relación entre DMO y la frecuencia de marcadores de activación y senescencia en linfocitos T periféricos.
6. No se ha encontrado relación entre DMO y marcadores séricos de inflamación (PCRhs, IL-6, CD14s).
7. Los pacientes con deficiencia de vitamina D mostraron menor proporción de linfocitos T CD8⁺ senescentes.
8. Se precisan estudios longitudinales y con alto tamaño muestral para aclarar el papel de la activación y senescencia inmune e inflamación crónica en la patogénesis de la enfermedad ósea en la infección por VIH por transmisión vertical y para establecer los posibles factores de riesgo implicados, para así poder diseñar estrategias que permitan alcanzar el pico óptimo de masa ósea.

Así mismo, se precisan estudios adicionales para investigar el papel de los biomarcadores inmunológicos como predictores de enfermedad ósea en esta población.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. UNAIDS. The Gap Report. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS); 2014: http://www.unaids.org/es/resources/documents/2014/20140716_UNAIDS_gap_report. Acceso 2014 December 16.
2. UNAIDS. Fact Sheet 2015; 2015: Disponible en: http://www.unaids.org/en/resources/documents/2015/20150714_factsheet. Acceso Febrero 2016.
3. UNAIDS. How AIDS changed everything — MDG6: 15 years, 15 lessons of hope from the AIDS response; 2015: Disponible en: http://www.unaids.org/en/resources/documents/2015/MDG6_15years-15lessonsfromtheAIDSresponse. Acceso Febrero 2016.
4. UNAIDS. AIDSinfo. <http://aidsinfo.unaids.org/>. Acceso Febrero 2016.
5. Área de Vigilancia de VIH y Comportamientos de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH y SIDA en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de SIDA. Plan Nacional sobre el SIDA - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. Madrid; 2015: Disponible en: www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf. Acceso Febrero 2016.
6. de Jose MI, Jimenez de Ory S, Espiau M, et al. A new tool for the paediatric HIV research: general data from the Cohort of the Spanish Paediatric HIV Network (CoRISpe). *BMC Infect Dis*. 2013;13:2.
7. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1993;328:327-335.
8. Alcami J, Coiras M. Immunopatogenia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:216-226.
9. Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:973-980.
10. HIV-1 viral load and CD4 cell count in untreated children with vertically acquired asymptomatic or mild disease. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA). *AIDS*. 1998;12:F1-8.
11. Palumbo PE, Kwok S, Waters S, et al. Viral measurement by polymerase chain reaction-based assays in human immunodeficiency virus-infected infants. *J Pediatr*. 1995;126:592-595.
12. McIntosh K, Shevitz A, Zaknun D, et al. Age- and time-related changes in extracellular viral load in children vertically infected by human immunodeficiency virus. *Pediatr Infect Dis J*. 1996;15:1087-1091.
13. Muenchhoff M, Prendergast AJ, Goulder PJ. Immunity to HIV in Early Life. *Front Immunol*. 2014;5:391.
14. Kourtis AP, Lee FK, Abrams EJ, et al. Mother-to-child transmission of HIV-1: timing and implications for prevention. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:726-732.
15. Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, et al. International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection. *Lancet*. 2007;370:68-80.
16. Prieto LM, Gonzalez-Tome MI, Munoz E, et al. Low rates of mother-to-child transmission of HIV-1 and risk factors for infection in Spain: 2000-2007. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31:1053-1058.

17. Forbes JC, Alimenti AM, Singer J, et al. A national review of vertical HIV transmission. *AIDS*. 2012;26:757-763.
18. Townsend CL, Byrne L, Cortina-Borja M, et al. Earlier initiation of ART and further decline in mother-to-child HIV transmission rates, 2000-2011. *AIDS*. 2014;28:1049-1057.
19. Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, et al. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort. *AIDS*. 2008;22:289-299.
20. Naver L, Lindgren S, Belfrage E, et al. Children born to HIV-1-infected women in Sweden in 1982-2003: trends in epidemiology and vertical transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;42:484-489.
21. Galli L, Puliti D, Chiappini E, et al. Is the interruption of antiretroviral treatment during pregnancy an additional major risk factor for mother-to-child transmission of HIV type 1? *Clin Infect Dis*. 2009;48:1310-1317.
22. von Linstow ML, Rosenfeldt V, Lebech AM, et al. Prevention of mother-to-child transmission of HIV in Denmark, 1994-2008. *HIV Med*. 2010;11:448-456.
23. Aebi-Popp K, Mulcahy F, Glass TR, et al. Missed opportunities among HIV-positive women to control viral replication during pregnancy and to have a vaginal delivery. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013;64:58-65.
24. Boer K, England K, Godfried MH, et al. Mode of delivery in HIV-infected pregnant women and prevention of mother-to-child transmission: changing practices in Western Europe. *HIV Med*. 2010;11:368-378.
25. Documento de consenso para el seguimiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en relación con la reproducción, el embarazo, el parto y la profilaxis de la transmisión vertical del niño expuesto. Grupo de expertos de la SPNS, GeSIDA, SEGO y SEIP. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32:310.e311-310.e333.
26. Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States.; 2015: Disponible en: <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/3/perinatal-guidelines/0>. Acceso 23 Junio 2015.
27. Krasinski K, Borkowsky W, Holzman RS. Prognosis of human immunodeficiency virus infection in children and adolescents. *Pediatr Infect Dis J*. 1989;8:216-220.
28. Frederick T, Mascola L, Eller A, et al. Progression of human immunodeficiency virus disease among infants and children infected perinatally with human immunodeficiency virus or through neonatal blood transfusion. Los Angeles County Pediatric AIDS Consortium and the Los Angeles County-University of Southern California Medical Center and the University of Southern California School of Medicine. *Pediatr Infect Dis J*. 1994;13:1091-1097.
29. Epidemiology, clinical features, and prognostic factors of paediatric HIV infection. Italian Multicentre Study. *Lancet*. 1988;2:1043-1046.
30. Blanche S, Tardieu M, Duliege A, et al. Longitudinal study of 94 symptomatic infants with perinatally acquired human immunodeficiency virus infection. Evidence for a bimodal expression of clinical and biological symptoms. *Am J Dis Child*. 1990;144:1210-1215.
31. Blanche S, Newell ML, Mayaux MJ, et al. Morbidity and mortality in European children vertically infected by HIV-1. The French Pediatric HIV Infection Study

- Group and European Collaborative Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1997;14:442-450.
32. Gray L, Newell ML, Thorne C, et al. Fluctuations in symptoms in human immunodeficiency virus-infected children: the first 10 years of life. *Pediatrics.* 2001;108:116-122.
 33. Natural history of vertically acquired human immunodeficiency virus-1 infection. The European Collaborative Study. *Pediatrics.* 1994;94:815-819.
 34. Kuhn L, Steketee RW, Weedon J, et al. Distinct risk factors for intrauterine and intrapartum human immunodeficiency virus transmission and consequences for disease progression in infected children. Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study. *J Infect Dis.* 1999;179:52-58.
 35. Lambert G, Thea DM, Pliner V, et al. Effect of maternal CD4+ cell count, acquired immunodeficiency syndrome, and viral load on disease progression in infants with perinatally acquired human immunodeficiency virus type 1 infection. New York City Perinatal HIV Transmission Collaborative Study Group. *J Pediatr.* 1997;130:890-897.
 36. Ioannidis JP, Tatsioni A, Abrams EJ, et al. Maternal viral load and rate of disease progression among vertically HIV-1-infected children: an international meta-analysis. *AIDS.* 2004;18:99-108.
 37. Warszawski J, Lechenadec J, Faye A, et al. Long-term nonprogression of HIV infection in children: evaluation of the ANRS prospective French Pediatric Cohort. *Clin Infect Dis.* 2007;45:785-794.
 38. Dunn D. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet.* 2003;362:1605-1611.
 39. Mofenson LM, Korelitz J, Meyer WA, 3rd, et al. The relationship between serum human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA level, CD4 lymphocyte percent, and long-term mortality risk in HIV-1-infected children. National Institute of Child Health and Human Development Intravenous Immunoglobulin Clinical Trial Study Group. *J Infect Dis.* 1997;175:1029-1038.
 40. Palumbo PE, Raskino C, Fiscus S, et al. Predictive value of quantitative plasma HIV RNA and CD4+ lymphocyte count in HIV-infected infants and children. *JAMA.* 1998;279:756-761.
 41. HIV Paediatric Prognostic Markers Collaborative Study. Predictive value of absolute CD4 cell count for disease progression in untreated HIV-1-infected children. *AIDS.* 2006;20:1289-1294.
 42. Scott GB, Hutto C, Makuch RW, et al. Survival in children with perinatally acquired human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1989;321:1791-1796.
 43. Becquet R, Marston M, Dabis F, et al. Children who acquire HIV infection perinatally are at higher risk of early death than those acquiring infection through breastmilk: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7:e28510.
 44. Judd A, Doerholt K, Tookey PA, et al. Morbidity, mortality, and response to treatment by children in the United Kingdom and Ireland with perinatally acquired HIV infection during 1996-2006: planning for teenage and adult care. *Clin Infect Dis.* 2007;45:918-924.
 45. Palladino C, Climent FJ, Jose MI, et al. Causes of death in pediatric patients vertically infected by the human immunodeficiency virus type 1 in Madrid, Spain, from 1982 to mid-2009. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30:495-500.

46. Kapogiannis BG, Soe MM, Nesheim SR, et al. Mortality trends in the US Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study (1986-2004). *Clin Infect Dis*. 2011;53:1024-1034.
47. Sanchez JM, Ramos Amador JT, Fernandez de Miguel S, et al. Impact of highly active antiretroviral therapy on the morbidity and mortality in Spanish human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:863-867.
48. Guillen S, Garcia San Miguel L, Resino S, et al. Opportunistic infections and organ-specific diseases in HIV-1-infected children: a cohort study (1990-2006). *HIV Med*. 2010;11:245-252.
49. Gona P, Van Dyke RB, Williams PL, et al. Incidence of opportunistic and other infections in HIV-infected children in the HAART era. *JAMA*. 2006;296:292-300.
50. Patel K, Hernan MA, Williams PL, et al. Long-term effectiveness of highly active antiretroviral therapy on the survival of children and adolescents with HIV infection: a 10-year follow-up study. *Clin Infect Dis*. 2008;46:507-515.
51. CDC. 1994 Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR*. 1994;43.
52. WHO. WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf>. Acceso 02/07/2015.
53. CDC. Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection — United States, 2014. *MMWR*. 2014;63.
54. Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection; 2016: Disponible en: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>. Acceso Abril 2016.
55. Fernandez-Cooke E, Rojas P, Holguin A, et al. Description and consequences of prescribing off-label antiretrovirals in the Madrid Cohort of HIV-infected children over a quarter of a century (1988-2012). *Antivir Ther*. 2016;21:65-70.
56. Persaud D, Siberry GK, Ahonkhai A, et al. Continued production of drug-sensitive human immunodeficiency virus type 1 in children on combination antiretroviral therapy who have undetectable viral loads. *J Virol*. 2004;78:968-979.
57. Saitoh A, Hsia K, Fenton T, et al. Persistence of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 DNA in peripheral blood despite prolonged suppression of plasma HIV-1 RNA in children. *J Infect Dis*. 2002;185:1409-1416.
58. Chun TW, Justement JS, Murray D, et al. Rebound of plasma viremia following cessation of antiretroviral therapy despite profoundly low levels of HIV reservoir: implications for eradication. *AIDS*. 2010;24:2803-2808.
59. Bamford A, Turkova A, Lyall H, et al. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection 2015: optimizing health in preparation for adult life. *HIV Med*. 2015.
60. WHO. Policy Brief: Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection: what's new; 2015: Disponible en: <http://www.who.int/hiv/pub/arv/policy-brief-arv-2015/en/>. Acceso Febrero 2016.

61. Panel de expertos de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP) y Plan Nacional sobre el SIDA (PNS). Documento de Consenso sobre Tratamiento Antirretroviral en niños y adolescentes con Infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana. Actualización Septiembre 2015; 2015: Disponible en:
www.seipweb.es/images/site/Documento_de_consenso_sobre_tratamiento_antirretroviral_en_ninos_y_adolescentes_VIH_2015.pdf. Acceso 22/02/2016.
62. Rodger AJ, Lodwick R, Schechter M, et al. Mortality in well controlled HIV in the continuous antiretroviral therapy arms of the SMART and ESPRIT trials compared with the general population. *AIDS*. 2013;27:973-979.
63. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*. 2011;53:1120-1126.
64. Gibb DM, Duong T, Tookey PA, et al. Decline in mortality, AIDS, and hospital admissions in perinatally HIV-1 infected children in the United Kingdom and Ireland. *BMJ*. 2003;327:1019.
65. Viani RM, Araneta MR, Deville JG, et al. Decrease in hospitalization and mortality rates among children with perinatally acquired HIV type 1 infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2004;39:725-731.
66. Mary-Krause M, Billaud E, Poizot-Martin I, et al. Risk factors for osteonecrosis in HIV-infected patients: impact of treatment with combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20:1627-1635.
67. Morse CG, Mican JM, Jones EC, et al. The incidence and natural history of osteonecrosis in HIV-infected adults. *Clin Infect Dis*. 2007;44:739-748.
68. Gaughan DM, Mofenson LM, Hughes MD, et al. Osteonecrosis of the hip (Legg-Calve-Perthes disease) in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatrics*. 2002;109:E74-74.
69. Lawson-Ayayi S, Bonnet F, Bernardin E, et al. Avascular necrosis in HIV-infected patients: a case-control study from the Aquitaine Cohort, 1997-2002, France. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1188-1193.
70. Chokotho L, Harrison WJ, Lubega N, et al. Avascular necrosis of the femoral head in HIV positive patients-an assessment of risk factors and early response to surgical treatment. *Malawi Med J*. 2013;25:28-32.
71. Whitlock GG, Herbert S, Copas A, et al. Avascular necrosis in HIV patients: a case-control study. *Int J STD AIDS*. 2013;24:799-803.
72. Mazzotta E, Agostinone A, Rosso R, et al. Osteonecrosis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients: a multicentric case-control study. *J Bone Miner Metab*. 2011;29:383-388.
73. Glesby MJ, Hoover DR, Vaamonde CM. Osteonecrosis in patients infected with human immunodeficiency virus: a case-control study. *J Infect Dis*. 2001;184:519-523.
74. Scribner AN, Troia-Cancio PV, Cox BA, et al. Osteonecrosis in HIV: a case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;25:19-25.
75. Permpalung N, Ungprasert P, Summachiwakij S, et al. Protease inhibitors and avascular necrosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44:93-95.
76. Aguiar De Aragao P, Lemos RB, Aquino MZ, et al. Hyperlipidaemia a risk factor for femoral head osteonecrosis (Legg-Calv -Perthes-like disease) in children with AIDS: case report. *Braz J Infect Dis*. 2002;6:142-145.

77. Alteraciones osteoarticulares en la infección por VIH. Grupo de Expertos del Plan Nacional sobre el SIDA (PNS) y Grupo de Estudio de SIDA (GESIDA). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:515-523.
78. McComsey GA, Tebas P, Shane E, et al. Bone disease in HIV infection: a practical review and recommendations for HIV care providers. *Clin Infect Dis*. 2010;51:937-946.
79. Orkin C, Wohl DA, Williams A, et al. Vitamin D deficiency in HIV: a shadow on long-term management? *AIDS Rev*. 2014;16:59-74.
80. Bolland MJ, Grey A, Horne AM, et al. Osteomalacia in an HIV-infected man receiving rifabutin, a cytochrome P450 enzyme inducer: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2008;7:3.
81. Herzmann C, Arasteh K. Efavirenz-induced osteomalacia. *AIDS*. 2009;23:274-275.
82. Mateo L, Holgado S, Marinoso ML, et al. Hypophosphatemic osteomalacia induced by tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Rheumatol*. 2014.
83. Lucey JM, Hsu P, Ziegler JB. Tenofovir-related Fanconi's syndrome and osteomalacia in a teenager with HIV. *BMJ Case Rep*. 2013;2013.
84. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2006;17:1726-1733.
85. Hernlund E, Svedbom A, Ivergard M, et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos*. 2013;8:136.
86. WHO Scientific Group on Assessment of Osteoporosis at Primary Health Care Level. Summary Meeting Report (2004). 2007: Disponible en: www.who.int/chp/topics/Osteoporosis.pdf. Acceso 20/08/2015.
87. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*. 2001;285:785-795.
88. Dempster DW, Shane E, Horbert W, et al. A simple method for correlative light and scanning electron microscopy of human iliac crest bone biopsies: qualitative observations in normal and osteoporotic subjects. *J Bone Miner Res*. 1986;1:15-21.
89. Ma NS, Gordon CM. Pediatric osteoporosis: where are we now? *J Pediatr*. 2012;161:983-990.
90. Bianchi ML, Leonard MB, Bechtold S, et al. Bone health in children and adolescents with chronic diseases that may affect the skeleton: the 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom*. 2014;17:281-294.
91. Gordon CM, Leonard MB, Zemel BS. 2013 Pediatric Position Development Conference: executive summary and reflections. *J Clin Densitom*. 2014;17:219-224.
92. Kanis JA. *Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. Technical Report*: World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK; 2007.
93. Kanis JA, Gluer CC. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int*. 2000;11:192-202.
94. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ*. 1996;312:1254-1259.

95. Johnell O, Kanis JA, Oden A, et al. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1185-1194.
96. Clark EM, Tobias JH, Ness AR. Association between bone density and fractures in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatrics.* 2006;117:e291-297.
97. Rauch F, Plotkin H, DiMeglio L, et al. Fracture prediction and the definition of osteoporosis in children and adolescents: the ISCD 2007 Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2008;11:22-28.
98. Bishop N, Arundel P, Clark E, et al. Fracture prediction and the definition of osteoporosis in children and adolescents: the ISCD 2013 Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17:275-280.
99. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1994;843:1-129.
100. Kanis JA, Melton III LJ, Christiansen C, et al. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1994;9:1137-1141.
101. 2015 ISCD Position Development Conference (Adult): Adult Official Positions: Disponible en: <http://www.iscd.org/official-positions/6th-iscd-position-development-conference-adult/>. Acceso 19/08/2015.
102. Bachrach LK, Sills IN. Clinical report-bone densitometry in children and adolescents. *Pediatrics.* 2011;127:189-194.
103. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17:225-242.
104. Gordon CM, Bachrach LK, Carpenter TO, et al. Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2008;11:43-58.
105. Zemel BS, Leonard MB, Kelly A, et al. Height adjustment in assessing dual energy x-ray absorptiometry measurements of bone mass and density in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1265-1273.
106. Adams JE, Engelke K, Zemel BS, et al. Quantitative computer tomography in children and adolescents: the 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom.* 2014;17:258-274.
107. Stagi S, Cavalli L, Iurato C, et al. Bone health in children and adolescents: the available imaging techniques. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2013;10:166-171.
108. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res.* 2008;63:220-228.
109. Wang KC, Amirabadi A, Cheung E, et al. Evidence-based outcomes on diagnostic accuracy of quantitative ultrasound for assessment of pediatric osteoporosis - a systematic review. *Pediatr Radiol.* 2014;44:1573-1587.
110. Ballabriga A, Carrascosa A. Masa ósea y nutrición. *Nutrición en la infancia y adolescencia.* Vol 2. 3 ed. Madrid: ERGON; 2006:922-949.
111. Stagi S, Cavalli L, Iurato C, et al. Bone metabolism in children and adolescents: main characteristics of the determinants of peak bone mass. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2013;10:172-179.
112. Golden NH, Abrams SA. Optimizing bone health in children and adolescents. *Pediatrics.* 2014;134:e1229-1243.
113. Pietschmann P, Mechtcheriakova D, Meshcheryakova A, et al. Immunology of Osteoporosis: A Mini-Review. *Gerontology.* 2015;62:128-137.

114. Neyro Bilbao JL, Cano Sánchez A, Palacios Gil-Antuñano S. Regulación del metabolismo óseo a través del sistema RANK-RANKL-OPG. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2011;3:105-112.
115. Dufresne A, Derbel O, Cassier P, et al. Giant-cell tumor of bone, anti-RANKL therapy. *Bonekey Rep.* 2012;1:149.
116. Baxter-Jones AD, Faulkner RA, Forwood MR, et al. Bone mineral accrual from 8 to 30 years of age: an estimation of peak bone mass. *J Bone Miner Res.* 2011;26:1729-1739.
117. Berger C, Goltzman D, Langsetmo L, et al. Peak bone mass from longitudinal data: implications for the prevalence, pathophysiology, and diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2010;25:1948-1957.
118. Riggs BL, Melton Iii LJ, 3rd, Robb RA, et al. Population-based study of age and sex differences in bone volumetric density, size, geometry, and structure at different skeletal sites. *J Bone Miner Res.* 2004;19:1945-1954.
119. Khosla S. Pathogenesis of age-related bone loss in humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2013;68:1226-1235.
120. Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, et al. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. *J Clin Invest.* 1994;93:799-808.
121. Wren TA, Kalkwarf HJ, Zemel BS, et al. Longitudinal tracking of dual-energy X-ray absorptiometry bone measures over 6 years in children and adolescents: persistence of low bone mass to maturity. *J Pediatr.* 2014;164:1280-1285 e1282.
122. Hernandez CJ, Beaupre GS, Carter DR. A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2003;14:843-847.
123. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Jr. The contribution of bone loss to postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1990;1:30-34.
124. Eisman JA. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.* 1999;20:788-804.
125. Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, et al. Peak bone mass. *Osteoporos Int.* 2000;11:985-1009.
126. Rizzoli R, Bonjour JP. Determinants of peak bone mass and mechanisms of bone loss. *Osteoporos Int.* 1999;9 Suppl 2:S17-23.
127. Hightower L. Osteoporosis: pediatric disease with geriatric consequences. *Orthop Nurs.* 2000;19:59-62.
128. Arpadi SM, Shiau S, Arpadi CM, et al. Bone Health in HIV-Infected Children, Adolescents and Young Adults: A Systematic Review. *J AIDS Clin Res.* 2014;5:374.
129. Eapen E, Grey V, Don-Wauchope A, et al. Bone health in Childhood: Usefulness of Biochemical Biomarkers. *eJIFCC.* 2008;19.
130. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS.* 2006;20:2165-2174.
131. Young B, Dao CN, Buchacz K, et al. Increased rates of bone fracture among HIV-infected persons in the HIV Outpatient Study (HOPS) compared with the US general population, 2000-2006. *Clin Infect Dis.* 2011;52:1061-1068.
132. Shiau S, Broun EC, Arpadi SM, et al. Incident fractures in HIV-infected individuals: a systematic review and meta-analysis. *AIDS.* 2013;27:1949-1957.
133. Grant P, Kitch D, McComsey G, et al. Long-term bone mineral density changes in antiretroviral-treated HIV-infected individuals. IAS 2015. 8th Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention; Vancouver, Canada.

134. Arpadi SM, Horlick M, Thornton J, et al. Bone mineral content is lower in prepubertal HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;29:450-454.
135. Zuccotti G, Vigano A, Gabiano C, et al. Antiretroviral therapy and bone mineral measurements in HIV-infected youths. *Bone*. 2010;46:1633-1638.
136. Rosso R, Vignolo M, Parodi A, et al. Bone quality in perinatally HIV-infected children: role of age, sex, growth, HIV infection, and antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005;21:927-932.
137. O'Brien KO, Razavi M, Henderson RA, et al. Bone mineral content in girls perinatally infected with HIV. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:821-826.
138. Mora S, Zamproni I, Beccio S, et al. Longitudinal changes of bone mineral density and metabolism in antiretroviral-treated human immunodeficiency virus-infected children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:24-28.
139. Puthanakit T, Saksawad R, Bunupuradah T, et al. Prevalence and risk factors of low bone mineral density among perinatally HIV-infected Thai adolescents receiving antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012;61:477-483.
140. Jacobson DL, Lindsey JC, Gordon CM, et al. Total body and spinal bone mineral density across Tanner stage in perinatally HIV-infected and uninfected children and youth in PACTG 1045. *AIDS*. 2010;24:687-696.
141. Mora S, Zamproni I, Cafarelli L, et al. Alterations in circulating osteoimmune factors may be responsible for high bone resorption rate in HIV-infected children and adolescents. *AIDS*. 2007;21:1129-1135.
142. Mora S, Sala N, Bricalli D, et al. Bone mineral loss through increased bone turnover in HIV-infected children treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2001;15:1823-1829.
143. Stagi S, Bindi G, Galluzzi F, et al. Changed bone status in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) perinatally infected children is related to low serum free IGF-I. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004;61:692-699.
144. DiMeglio LA, Wang J, Siberry GK, et al. Bone mineral density in children and adolescents with perinatal HIV infection. *AIDS*. 2013;27:211-220.
145. Jacobson DL, Spiegelman D, Duggan C, et al. Predictors of bone mineral density in human immunodeficiency virus-1 infected children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41:339-346.
146. Pitukcheewanont P, Safani D, Church J, et al. Bone measures in HIV-1 infected children and adolescents: disparity between quantitative computed tomography and dual-energy X-ray absorptiometry measurements. *Osteoporos Int*. 2005;16:1393-1396.
147. Lima LR, Silva RC, Giuliano Ide C, et al. Bone mass in children and adolescents infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr (Rio J)*. 2013;89:91-99.
148. Schtscherbyna A, Pinheiro MF, Mendonca LM, et al. Factors associated with low bone mineral density in a Brazilian cohort of vertically HIV-infected adolescents. *Int J Infect Dis*. 2012;16:e872-878.
149. Bunders MJ, Frinking O, Scherpbier HJ, et al. Bone mineral density increases in HIV-infected children treated with long-term combination antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2013;56:583-586.
150. Macdonald HM, Chu J, Nettlefold L, et al. Bone geometry and strength are adapted to muscle force in children and adolescents perinatally infected with HIV. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2013;13:53-65.

151. Palchetti CZ, Szejnfeld VL, de Menezes Succi RC, et al. Impaired bone mineral accrual in prepubertal HIV-infected children: a cohort study. *Braz J Infect Dis.* 2015;19:623-630.
152. Siberry GK, Li H, Jacobson D. Fracture risk by HIV infection status in perinatally HIV-exposed children. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012;28:247-250.
153. Soler Palacin P, Torrent A, Rossich R, et al. Osteoporosis and multiple fractures in an antiretroviral-naive, HIV-positive child. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2007;20:933-938.
154. Mirani G, Williams PL, Chernoff M, et al. Changing Trends in Complications and Mortality Rates Among US Youth and Young Adults With HIV Infection in the Era of Combination Antiretroviral Therapy. *Clin Infect Dis.* 2015;61:1850-1861.
155. Warriner AH, Mugavero M, Overton ET. Bone alterations associated with HIV. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2014;11:233-240.
156. Dolan SE, Kanter JR, Grinspoon S. Longitudinal analysis of bone density in human immunodeficiency virus-infected women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:2938-2945.
157. Li Vecchi V, Soresi M, Giannitrapani L, et al. Dairy calcium intake and lifestyle risk factors for bone loss in hiv-infected and uninfected Mediterranean subjects. *BMC Infect Dis.* 2012;12:192.
158. Mondy K, Yarasheski K, Powderly WG, et al. Longitudinal evolution of bone mineral density and bone markers in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clin Infect Dis.* 2003;36:482-490.
159. Grijzen ML, Vrouenraets SM, Steingrover R, et al. High prevalence of reduced bone mineral density in primary HIV-1-infected men. *AIDS.* 2010;24:2233-2238.
160. Casado JL, Banon S, Andres R, et al. Prevalence of causes of secondary osteoporosis and contribution to lower bone mineral density in HIV-infected patients. *Osteoporos Int.* 2014;25:1071-1079.
161. Meyzer C, Frange P, Chappuy H, et al. Vitamin D deficiency and insufficiency in HIV-infected children and young adults. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32:1240-1244.
162. Chokephaibulkit K, Saksawad R, Bunupuradah T, et al. Prevalence of vitamin D deficiency among perinatally HIV-infected Thai adolescents receiving antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32:1237-1239.
163. Brown TT, McComsey GA, King MS, et al. Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51:554-561.
164. Martin A, Moore C, Mallon PW, et al. Bone mineral density in HIV participants randomized to raltegravir and lopinavir/ritonavir compared with standard second line therapy. *AIDS.* 2013;27:2403-2411.
165. Bolland MJ, Wang TK, Grey A, et al. Stable bone density in HAART-treated individuals with HIV: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:2721-2731.
166. Stellbrink HJ, Orkin C, Arribas JR, et al. Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *Clin Infect Dis.* 2010;51:963-972.

167. McComsey GA, Kitch D, Daar ES, et al. Bone mineral density and fractures in antiretroviral-naive persons randomized to receive abacavir-lamivudine or tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine along with efavirenz or atazanavir-ritonavir: Aids Clinical Trials Group A5224s, a substudy of ACTG A5202. *J Infect Dis.* 2011;203:1791-1801.
168. Duvivier C, Kolta S, Assoumou L, et al. Greater decrease in bone mineral density with protease inhibitor regimens compared with nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor regimens in HIV-1 infected naive patients. *AIDS.* 2009;23:817-824.
169. Moyle GJ, Stellbrink HJ, Compston J, et al. 96-Week results of abacavir/lamivudine versus tenofovir/emtricitabine, plus efavirenz, in antiretroviral-naive, HIV-1-infected adults: ASSERT study. *Antivir Ther.* 2013;18:905-913.
170. Haskelberg H, Hoy JF, Amin J, et al. Changes in bone turnover and bone loss in HIV-infected patients changing treatment to tenofovir-emtricitabine or abacavir-lamivudine. *PLoS One.* 2012;7:e38377.
171. Huang JS, Hughes MD, Riddler SA, et al. Bone mineral density effects of randomized regimen and nucleoside reverse transcriptase inhibitor selection from ACTG A5142. *HIV Clin Trials.* 2013;14:224-234.
172. Bedimo R, Maalouf NM, Zhang S, et al. Osteoporotic fracture risk associated with cumulative exposure to tenofovir and other antiretroviral agents. *AIDS.* 2012;26:825-831.
173. Hazra R, Gafni RI, Maldarelli F, et al. Tenofovir disoproxil fumarate and an optimized background regimen of antiretroviral agents as salvage therapy for pediatric HIV infection. *Pediatrics.* 2005;116:e846-854.
174. Gafni RI, Hazra R, Reynolds JC, et al. Tenofovir disoproxil fumarate and an optimized background regimen of antiretroviral agents as salvage therapy: impact on bone mineral density in HIV-infected children. *Pediatrics.* 2006;118:e711-718.
175. Aurpibul L, Cressey TR, Sricharoenchai S, et al. Efficacy, safety and pharmacokinetics of tenofovir disoproxil fumarate in virologic-suppressed HIV-infected children using weight-band dosing. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:392-397.
176. Vignano A, Zuccotti GV, Puzzovio M, et al. Tenofovir disoproxil fumarate and bone mineral density: a 60-month longitudinal study in a cohort of HIV-infected youths. *Antivir Ther.* 2010;15:1053-1058.
177. Della Negra M, De Carvalho AP, De Aquino MZ, et al. Long-term efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-1-infected adolescents failing antiretroviral therapy: the final results of study GS-US-104-0321. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:398-405.
178. Aurpibul L, Puthanakit T. Review of tenofovir use in HIV-infected children. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:383-391.
179. Bruera D, Luna N, David DO, et al. Decreased bone mineral density in HIV-infected patients is independent of antiretroviral therapy. *AIDS.* 2003;17:1917-1923.
180. Aydin OA, Karaosmanoglu HK, Karahasanoglu R, et al. Prevalence and risk factors of osteopenia/osteoporosis in Turkish HIV/AIDS patients. *Braz J Infect Dis.* 2013;17:707-711.

181. Grant PM, Kitch D, McComsey GA, et al. Low baseline CD4+ count is associated with greater bone mineral density loss after antiretroviral therapy initiation. *Clin Infect Dis*. 2013;57:1483-1488.
182. Cazanave C, Dupon M, Lavignolle-Aurillac V, et al. Reduced bone mineral density in HIV-infected patients: prevalence and associated factors. *AIDS*. 2008;22:395-402.
183. Negredo E, Domingo P, Ferrer E, et al. Peak bone mass in young HIV-infected patients compared with healthy controls. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014;65:207-212.
184. Masyeni S, Utama S, Somia A, et al. Factors influencing bone mineral density in ARV-naive patients at Sanglah Hospital, Bali. *Acta Med Indones*. 2013;45:175-179.
185. Short CE, Shaw SG, Fisher MJ, et al. Prevalence of and risk factors for osteoporosis and fracture among a male HIV-infected population in the UK. *Int J STD AIDS*. 2014;25:113-121.
186. Fakruddin JM, Laurence J. HIV-1 Vpr enhances production of receptor of activated NF-kappaB ligand (RANKL) via potentiation of glucocorticoid receptor activity. *Arch Virol*. 2005;150:67-78.
187. Gibellini D, De Crignis E, Ponti C, et al. HIV-1 Tat protein enhances RANKL/M-CSF-mediated osteoclast differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;401:429-434.
188. Cotter EJ, Malizia AP, Chew N, et al. HIV proteins regulate bone marker secretion and transcription factor activity in cultured human osteoblasts with consequent potential implications for osteoblast function and development. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007;23:1521-1530.
189. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. 2006;12:1365-1371.
190. Rueda CM, Velilla PA, Chougnat CA, et al. HIV-induced T-cell activation/exhaustion in rectal mucosa is controlled only partially by antiretroviral treatment. *PLoS One*. 2012;7:e30307.
191. Ofotokun I, McIntosh E, Weitzmann MN. HIV: inflammation and bone. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2012;9:16-25.
192. Gazzola L, Bellistri GM, Tincati C, et al. Association between peripheral T-Lymphocyte activation and impaired bone mineral density in HIV-infected patients. *J Transl Med*. 2013;11:51.
193. Brown TT, Moser C, Currier JS, et al. Changes in Bone Mineral Density After Initiation of Antiretroviral Treatment With Tenofovir Disoproxil Fumarate/Emtricitabine Plus Atazanavir/Ritonavir, Darunavir/Ritonavir, or Raltegravir. *J Infect Dis*. 2015.
194. Erlandson KM, O'Riordan M, Labbato D, et al. Relationships Between Inflammation, Immune Activation, and Bone Health Among HIV-Infected Adults on Stable Antiretroviral Therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014;65:290-298.
195. Puthanakit T, Siberry GK. Bone health in children and adolescents with perinatal HIV infection. *J Int AIDS Soc*. 2013;16:18575.
196. Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection; 2015: Disponible en: <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>. Acceso 23 Junio 2015.

197. Fortuny C, Noguera A, Alsina L, et al. Long-term use of bisphosphonates in the treatment of HIV-related bone pain in perinatally infected pediatric patients. *AIDS*. 2008;22:1888-1890.
198. Wei X, Decker JM, Wang S, et al. Antibody neutralization and escape by HIV-1. *Nature*. 2003;422:307-312.
199. Koup RA, Safrit JT, Cao Y, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol*. 1994;68:4650-4655.
200. Borrow P, Lewicki H, Hahn BH, et al. Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*. 1994;68:6103-6110.
201. Thobakgale CF, Ramduth D, Reddy S, et al. Human immunodeficiency virus-specific CD8+ T-cell activity is detectable from birth in the majority of in utero-infected infants. *J Virol*. 2007;81:12775-12784.
202. Shalekoff S, Meddows-Taylor S, Gray GE, et al. Identification of human immunodeficiency virus-1 specific CD8+ and CD4+ T cell responses in perinatally-infected infants and their mothers. *AIDS*. 2009;23:789-798.
203. Scott ZA, Chadwick EG, Gibson LL, et al. Infrequent detection of HIV-1-specific, but not cytomegalovirus-specific, CD8(+) T cell responses in young HIV-1-infected infants. *J Immunol*. 2001;167:7134-7140.
204. Prendergast A, Goodliffe H, Clapson M, et al. Gag-specific CD4+ T-cell responses are associated with virological control of paediatric HIV-1 infection. *AIDS*. 2011;25:1329-1331.
205. Huang S, Dunkley-Thompson J, Tang Y, et al. Deficiency of HIV-Gag-specific T cells in early childhood correlates with poor viral containment. *J Immunol*. 2008;181:8103-8111.
206. Nqoko B, Day CL, Mansoor N, et al. HIV-specific gag responses in early infancy correlate with clinical outcome and inversely with viral load. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011;27:1311-1316.
207. Appay V, Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J Pathol*. 2008;214:231-241.
208. Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, 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;187:1534-1543.
209. Ssewanyana I, Elrefaei M, Dorsey G, et al. Profile of T cell immune responses in HIV-infected children from Uganda. *J Infect Dis*. 2007;196:1667-1670.
210. Prendergast A, O'Callaghan M, Menson E, et al. Factors influencing T cell activation and programmed death 1 expression in HIV-infected children. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012;28:465-468.
211. Anselmi A, Vendrame D, Rampon O, et al. Immune reconstitution in human immunodeficiency virus type 1-infected children with different virological responses to anti-retroviral therapy. *Clin Exp Immunol*. 2007;150:442-450.
212. Resino S, Bellon JM, Gurbindo MD, et al. CD38 expression in CD8+ T cells predicts virological failure in HIV type 1-infected children receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2004;38:412-417.
213. Diaz L, Mendez-Lagares G, Correa-Rocha R, et al. Detectable viral load aggravates immunosenescence features of CD8 T-cell subsets in vertically HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012;60:447-454.

- 214.** Mendez-Lagares G, Diaz L, Correa-Rocha R, et al. Specific patterns of CD4-associated immunosenescence in vertically HIV-infected subjects. *Clin Microbiol Infect.* 2012;19:558-565.
- 215.** Pilakka-Kanthikeel S, Huang S, Fenton T, et al. Increased gut microbial translocation in HIV-infected children persists in virologic responders and virologic failures after antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31:583-591.
- 216.** Pilakka-Kanthikeel S, Kris A, Selvaraj A, et al. Immune activation is associated with increased gut microbial translocation in treatment-naive, HIV-infected children in a resource-limited setting. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2014;66:16-24.
- 217.** Paiardini M, Muller-Trutwin M. HIV-associated chronic immune activation. *Immunol Rev.* 2013;254:78-101.
- 218.** Klatt NR, Chomont N, Douek DC, et al. Immune activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection. *Immunol Rev.* 2013;254:326-342.
- 219.** Zeng M, Smith AJ, Wietgreffe SW, et al. Cumulative mechanisms of lymphoid tissue fibrosis and T cell depletion in HIV-1 and SIV infections. *J Clin Invest.* 2011;121:998-1008.
- 220.** Hazenberg MD, Otto SA, van Benthem BH, et al. Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS. *AIDS.* 2003;17:1881-1888.
- 221.** Giorgi JV, Detels R. T-cell subset alterations in HIV-infected homosexual men: NIAID Multicenter AIDS cohort study. *Clin Immunol Immunopathol.* 1989;52:10-18.
- 222.** Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, et al. HIV disease progression despite suppression of viral replication is associated with exhaustion of lymphopoiesis. *Blood.* 2011;117:5142-5151.
- 223.** Hunt PW, Cao HL, Muzoora C, et al. Impact of CD8+ T-cell activation on CD4+ T-cell recovery and mortality in HIV-infected Ugandans initiating antiretroviral therapy. *AIDS.* 2011;25:2123-2131.
- 224.** Lederman MM, Calabrese L, Funderburg NT, et al. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J Infect Dis.* 2011;204:1217-1226.
- 225.** Giorgi JV, Hultin LE, McKeating JA, et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. *J Infect Dis.* 1999;179:859-870.
- 226.** Kaplan RC, Sinclair E, Landay AL, et al. T cell activation and senescence predict subclinical carotid artery disease in HIV-infected women. *J Infect Dis.* 2011;203:452-463.
- 227.** D'Abramo A, Zingaropoli MA, Oliva A, et al. Immune activation, immunosenescence, and osteoprotegerin as markers of endothelial dysfunction in subclinical HIV-associated atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2015;2014:192594.
- 228.** Karim R, Mack WJ, Kono N, et al. T-cell activation, both pre- and post-HAART levels, correlates with carotid artery stiffness over 6.5 years among HIV-infected women in the WIHS. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2014;67:349-356.

229. Grauer OM, Reichelt D, Gruneberg U, et al. Neurocognitive decline in HIV patients is associated with ongoing T-cell activation in the cerebrospinal fluid. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2:906-919.
230. Erlandson KM, Allshouse AA, Jankowski CM, et al. Association of functional impairment with inflammation and immune activation in HIV type 1-infected adults receiving effective antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2013;208:249-259.
231. Paul ME, Mao C, Charurat M, et al. Predictors of immunologic long-term nonprogression in HIV-infected children: implications for initiating therapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:848-855.
232. Romeiro JR, Pinto JA, Silva ML, et al. Further evidence that the expression of CD38 and HLA-DR(+) in CD8(+) lymphocytes does not correlate to disease progression in HIV-1 vertically infected children. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic).* 2012;11:164-168.
233. Resino S, Seoane E, Gutierrez MD, et al. CD4(+) T-cell immunodeficiency is more dependent on immune activation than viral load in HIV-infected children on highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;42:269-276.
234. Neuhaus J, Jacobs DR, Jr., Baker JV, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis.* 2010;201:1788-1795.
235. McComsey GA, Kitch D, Sax PE, et al. Associations of inflammatory markers with AIDS and non-AIDS clinical events after initiation of antiretroviral therapy: AIDS clinical trials group A5224s, a substudy of ACTG A5202. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2014;65:167-174.
236. Tenorio AR, Zheng Y, Bosch RJ, et al. Soluble markers of inflammation and coagulation but not T-cell activation predict non-AIDS-defining morbid events during suppressive antiretroviral treatment. *J Infect Dis.* 2014;210:1248-1259.
237. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEHIV cohort study. *Clin Infect Dis.* 2014;59:1787-1797.
238. Duprez DA, Neuhaus J, Kuller LH, et al. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals. *PLoS One.* 2012;7:e44454.
239. Borges AH, Silverberg MJ, Wentworth D, et al. Predicting risk of cancer during HIV infection: the role of inflammatory and coagulation biomarkers. *AIDS.* 2013;27:1433-1441.
240. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 2008;5:e203.
241. So-Armah KA, Tate JP, Chang CH, et al. Do Biomarkers Of Inflammation, Monocyte Activation And Altered Coagulation Explain Excess Mortality Between HIV Infected and Uninfected People? *J Acquir Immune Defic Syndr.*
242. Khaitan A, Unutmaz D. Revisiting immune exhaustion during HIV infection. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2011;8:4-11.
243. Tandon R, Giret MT, Sengupta D, et al. Age-related expansion of Tim-3 expressing T cells in vertically HIV-1 infected children. *PLoS One.* 2012;7:e45733.
244. Papagno L, Spina CA, Marchant A, et al. Immune activation and CD8+ T-cell differentiation towards senescence in HIV-1 infection. *PLoS Biol.* 2004;2:E20.

245. Brenchley JM, Karandikar NJ, Betts MR, et al. Expression of CD57 defines replicative senescence and antigen-induced apoptotic death of CD8⁺ T cells. *Blood*. 2003;101:2711-2720.
246. Desai S, Landay A. Early immune senescence in HIV disease. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2010;7:4-10.
247. Deeks SG. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging. *Annu Rev Med*. 2011;62:141-155.
248. Ferrando-Martinez S, Ruiz-Mateos E, Romero-Sanchez MC, et al. HIV infection-related premature immunosenescence: high rates of immune exhaustion after short time of infection. *Curr HIV Res*. 2011;9:289-294.
249. Tassiopoulos K, Landay A, Collier AC, et al. CD28-negative CD4⁺ and CD8⁺ T cells in antiretroviral therapy-naive HIV-infected adults enrolled in adult clinical trials group studies. *J Infect Dis*. 2012;205:1730-1738.
250. Mansoor N, Abel B, Scriba TJ, et al. Significantly skewed memory CD8⁺ T cell subsets in HIV-1 infected infants during the first year of life. *Clin Immunol*. 2009;130:280-289.
251. Deeks SG, Verdin E, McCune JM. Immunosenescence and HIV. *Curr Opin Immunol*. 2012;24:501-506.
252. Davalos AR, Coppe JP, Campisi J, et al. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer Metastasis Rev*. 2010;29:273-283.
253. Cao W, Jamieson BD, Hultin LE, et al. Premature aging of T cells is associated with faster HIV-1 disease progression. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;50:137-147.
254. Lange CG, Lederman MM, Medvik K, et al. Nadir CD4⁺ T-cell count and numbers of CD28⁺ CD4⁺ T-cells predict functional responses to immunizations in chronic HIV-1 infection. *AIDS*. 2003;17:2015-2023.
255. Unemori P, Leslie KS, Hunt PW, et al. Immunosenescence is associated with presence of Kaposi's sarcoma in antiretroviral treated HIV infection. *AIDS*. 2013;27:1735-1742.
256. Veldman CM, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys*. 2000;374:334-338.
257. Baeke F, Takiishi T, Korf H, et al. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*. 2010;10:482-496.
258. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:685-698.
259. von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, et al. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat Immunol*. 2010;11:344-349.
260. European Paediatrics Lipodystrophy Group. Antiretroviral therapy, fat redistribution and hyperlipidaemia in HIV-infected children in Europe. *AIDS*. 2004;18:1443-1451.
261. NIH. National Institutes of Health. Office of Dietary Supplements. Vitamin D. Fact Sheet for Health Professionals. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/#h2>. Acceso Octubre 2013.
262. del Rio L, Carrascosa A, Pons F, et al. Bone mineral density of the lumbar spine in white Mediterranean Spanish children and adolescents: changes related to age, sex, and puberty. *Pediatr Res*. 1994;35:362-366.

263. Zemel BS, Kalkwarf HJ, Gilsanz V, et al. Revised reference curves for bone mineral content and areal bone mineral density according to age and sex for black and non-black children: results of the bone mineral density in childhood study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:3160-3169.
264. Garcia-Merino I, de Las Cuevas N, Jimenez JL, et al. Pediatric HIV BioBank: a new role of the Spanish HIV BioBank in pediatric HIV research. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010;26:241-244.
265. Carrascosa A, Fernández, JM, Fernández M, López-Siguero JP, López D, Sánchez E, y Grupo Colaborador. Estudios españoles de crecimiento 2010; 2010: http://www.aeped.es/sites/default/files/eecweb14_09_10.pdf. Acceso Jun, 26 2015.
266. WHO. Growth reference 5-19 years. Disponible en: http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/.
267. Sainz T, Alvarez-Fuente M, Navarro ML, et al. Subclinical atherosclerosis and markers of immune activation in HIV-infected children and adolescents: The CaroVIH Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2014.
268. Rojo Conejo P, Ramos Amador JT, Garcia Pinar L, et al. Disminución de la mineralización ósea en el niño VIH en tratamiento antirretroviral de gran actividad. *An Pediatr (Barc).* 2004;60:249-253.
269. Topor LS, Melvin P, Giancaterino C, et al. Factors associated with low bone density in patients referred for assessment of bone health. *Int J Pediatr Endocrinol.* 2013;2013:4.
270. Mora S, Zamproni I, Giacomet V, et al. Analysis of bone mineral content in horizontally HIV-infected children naive to antiretroviral treatment. *Calcif Tissue Int.* 2005;76:336-340.
271. Mulligan K, Harris DR, Emmanuel P, et al. Low bone mass in behaviorally HIV-infected young men on antiretroviral therapy: Adolescent Trials Network Study 021B. *Clin Infect Dis.* 2012;55:461-468.
272. Yin MT, Lund E, Shah J, et al. Lower peak bone mass and abnormal trabecular and cortical microarchitecture in young men infected with HIV early in life. *AIDS.* 2014;28:345-353.
273. Pinnetti C, Federico L, Lorenzini P, et al. Relationship between body mass index and bone mineral density in HIV-infected patients referred for DXA. *J Int AIDS Soc.* 2014;17:19569.
274. Carr A, Grund B, Neuhaus J, et al. Prevalence of and risk factors for low bone mineral density in untreated HIV infection: a substudy of the INSIGHT Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) trial. *HIV Med.* 2015;16 Suppl 1:137-146.
275. Pinto Neto LF, Ragi-Eis S, Vieira NF, et al. Low bone mass prevalence, therapy type, and clinical risk factors in an HIV-infected Brazilian population. *J Clin Densitom.* 2011;14:434-439.
276. Bonjoch A, Figueras M, Estany C, et al. High prevalence of and progression to low bone mineral density in HIV-infected patients: a longitudinal cohort study. *AIDS.* 2010;24:2827-2833.
277. Escota GV, Mondy K, Bush T, et al. High Prevalence of Low Bone Mineral Density and Substantial Bone Loss over 4 Years Among HIV-Infected Persons in the Era of Modern Antiretroviral Therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2015.
278. Kim HS, Chin BS, Shin HS. Prevalence and risk factors of low bone mineral density in Korean HIV-infected patients: impact of abacavir and zidovudine. *J Korean Med Sci.* 2013;28:827-832.

- 279.** Kinai E, Nishijima T, Mizushima D, et al. Long-term use of protease inhibitors is associated with bone mineral density loss. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2014;30:553-559.
- 280.** Mary-Krause M, Viard JP, Ename-Mkoumazok B, et al. Prevalence of low bone mineral density in men and women infected with human immunodeficiency virus 1 and a proposal for screening strategy. *J Clin Densitom*. 2012;15:422-433.
- 281.** Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, et al. CLINICAL Review # : low body weight mediates the relationship between HIV infection and low bone mineral density: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:4522-4528.
- 282.** Cotter AG, Sabin CA, Simelane S, et al. Relative contribution of HIV infection, demographics and body mass index to bone mineral density. *AIDS*. 2014;28:2051-2060.
- 283.** Huang JS, Rietschel P, Hadigan CM, et al. Increased abdominal visceral fat is associated with reduced bone density in HIV-infected men with lipodystrophy. *AIDS*. 2001;15:975-982.
- 284.** Bonnet E, Ruidavets JB, Genoux A, et al. Early loss of bone mineral density is correlated with a gain of fat mass in patients starting a protease inhibitor containing regimen: the prospective Lipotrip study. *BMC Infect Dis*. 2013;13:293.
- 285.** Brown TT, Chen Y, Currier JS, et al. Body composition, soluble markers of inflammation, and bone mineral density in antiretroviral therapy-naive HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013;63:323-330.
- 286.** Rutstein R, Downes A, Zemel B, et al. Vitamin D status in children and young adults with perinatally acquired HIV infection. *Clin Nutr*. 2011;30:624-628.
- 287.** Eckard AR, Tangpricha V, Seydafkan S, et al. The relationship between vitamin D status and HIV-related complications in HIV-infected children and young adults. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:1224-1229.
- 288.** Madrid L, Deya A, Noguera-Julian A, et al. Normal levels of vitamin D among HIV-infected Catalan pediatric patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012;61:e18-19.
- 289.** Arpadi SM, McMahon DJ, Abrams EJ, et al. Effect of supplementation with cholecalciferol and calcium on 2-y bone mass accrual in HIV-infected children and adolescents: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2012;95:678-685.
- 290.** Lerma E, Molas ME, Montero MM, et al. Prevalence and Factors Associated with Vitamin D Deficiency and Hyperparathyroidism in HIV-Infected Patients Treated in Barcelona. *ISRN AIDS*. 2012;2012:485307.
- 291.** Rosenvinge MM, Gedela K, Copas AJ, et al. Tenofovir-linked hyperparathyroidism is independently associated with the presence of vitamin D deficiency. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;54:496-499.
- 292.** Childs KE, Fishman SL, Constable C, et al. Short communication: Inadequate vitamin D exacerbates parathyroid hormone elevations in tenofovir users. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010;26:855-859.
- 293.** Masia M, Padilla S, Robledano C, et al. Early changes in parathyroid hormone concentrations in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy with tenofovir. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012;28:242-246.
- 294.** Pocaterra D, Carenzi L, Ricci E, et al. Secondary hyperparathyroidism in HIV patients: is there any responsibility of highly active antiretroviral therapy? *AIDS*. 2011;25:1430-1433.

295. Kwan CK, Eckhardt B, Baghdadi J, et al. Hyperparathyroidism and complications associated with vitamin D deficiency in HIV-infected adults in New York City, New York. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012;28:1025-1032.
296. Havens PL, Stephensen CB, Hazra R, et al. Vitamin D3 decreases parathyroid hormone in HIV-infected youth being treated with tenofovir: a randomized, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1013-1025.
297. Paul TV, Asha HS, Thomas N, et al. Hypovitaminosis D and bone mineral density in human immunodeficiency virus-infected men from India, with or without antiretroviral therapy. *Endocr Pract*. 2010;16:547-553.
298. Sudjaritruk T, Bunupuradah T, Aulpibul L, et al. Hypovitaminosis D and hyperparathyroidism: effects on bone turnover and bone mineral density among perinatally HIV-infected adolescents. *AIDS*. 2016;30:1059-1067.
299. Grund B, Peng G, Gibert CL, et al. Continuous antiretroviral therapy decreases bone mineral density. *AIDS*. 2009;23:1519-1529.
300. Hoy J, Grund B, Roediger M, et al. Interruption or deferral of antiretroviral therapy reduces markers of bone turnover compared with continuous therapy: The SMART body composition substudy. *J Bone Miner Res*. 2013;28:1264-1274.
301. Hernandez-Vallejo SJ, Beaupere C, Larghero J, et al. HIV protease inhibitors induce senescence and alter osteoblastic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells: beneficial effect of pravastatin. *Aging Cell*. 2013;12:955-965.
302. Della Negra M, de Carvalho AP, de Aquino MZ, et al. A randomized study of tenofovir disoproxil fumarate in treatment-experienced HIV-1 infected adolescents. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31:469-473.
303. Viread: Ficha técnica o Resumen de las características del producto. Última revisión: 15/07/2015; Disponible en: www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document.../WC500051737.pdf. Acceso Noviembre 2015.
304. Siberry GK, Jacobson DL, Kalkwarf HJ, et al. Lower Newborn Bone Mineral Content Associated With Maternal Use of Tenofovir Disoproxil Fumarate During Pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2015;61:996-1003.
305. Siberry GK, Tierney C, Stranix-Chibanda L, et al. Impact of Maternal Tenofovir Use on HIV-Exposed Newborn Bone Mineral. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections 2016; Boston, Massachusetts.
306. Mills T, Andrade J, DiPerri G, et al. Switching from a tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-based regimen to a tenofovir alafenamide (TAF)-based regimen: data in virologically suppressed adults through 48 weeks of treatment. IAS 2015. 8th Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention; Vancouver, Canada.
307. Bastard JP, Soulie C, Fellahi S, et al. Circulating interleukin-6 levels correlate with residual HIV viraemia and markers of immune dysfunction in treatment-controlled HIV-infected patients. *Antivir Ther*. 2012;17:915-919.
308. Post WS, Budoff M, Kingsley L, et al. Associations between HIV infection and subclinical coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med*. 2014;160:458-467.
309. Lang S, Mary-Krause M, Simon A, et al. HIV replication and immune status are independent predictors of the risk of myocardial infarction in HIV-infected individuals. *Clin Infect Dis*. 2012;55:600-607.

310. Ellis RJ, Badiee J, Vaida F, et al. CD4 nadir is a predictor of HIV neurocognitive impairment in the era of combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2011;25:1747-1751.
311. Serrano-Villar S, Sainz T, Lee SA, et al. HIV-infected individuals with low CD4/CD8 ratio despite effective antiretroviral therapy exhibit altered T cell subsets, heightened CD8+ T cell activation, and increased risk of non-AIDS morbidity and mortality. *PLoS Pathog*. 2014;10:e1004078.
312. Frederiksen J, Buggert M, Noyan K, et al. Multidimensional Clusters of CD4+ T Cell Dysfunction Are Primarily Associated with the CD4/CD8 Ratio in Chronic HIV Infection. *PLoS One*. 2015;10:e0137635.
313. Serrano-Villar S, Gutierrez C, Vallejo A, et al. The CD4/CD8 ratio in HIV-infected subjects is independently associated with T-cell activation despite long-term viral suppression. *J Infect*. 2013;66:57-66.
314. Serrano-Villar S, Moreno S, Fuentes-Ferrer M, et al. The CD4:CD8 ratio is associated with markers of age-associated disease in virally suppressed HIV-infected patients with immunological recovery. *HIV Med*. 2014;15:40-49.
315. Serrano-Villar S, Perez-Elias MJ, Drona F, et al. Increased risk of serious non-AIDS-related events in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy associated with a low CD4/CD8 ratio. *PLoS One*. 2014;9:e85798.
316. Mussini C, Lorenzini P, Cozzi-Lepri A, et al. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *Lancet HIV*. 2015;2:e98-e106.
317. Sainz T, Serrano-Villar S, Diaz L, et al. The CD4/CD8 ratio as a marker T-cell activation, senescence and activation/exhaustion in treated HIV-infected children and young adults. *AIDS*. 2013;27:1513-1516.
318. Pathai S, Bajillan H, Landay AL, et al. Is HIV a model of accelerated or accentuated aging? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69:833-842.
319. Wada NI, Jacobson LP, Margolick JB, et al. The effect of HAART-induced HIV suppression on circulating markers of inflammation and immune activation. *AIDS*. 2015;29:463-471.
320. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69 Suppl 1:S4-9.
321. Duffau P, Wittkop L, Lazaro E, et al. Association of immune-activation and senescence markers with non-AIDS-defining comorbidities in HIV-suppressed patients. *AIDS*. 2015;29:2099-2108.
322. Kelesidis T, Kendall MA, Yang OO, et al. Biomarkers of microbial translocation and macrophage activation: association with progression of subclinical atherosclerosis in HIV-1 infection. *J Infect Dis*. 2012;206:1558-1567.
323. Longenecker CT, Jiang Y, Orringer CE, et al. Soluble CD14 is independently associated with coronary calcification and extent of subclinical vascular disease in treated HIV infection. *AIDS*. 2014;28:969-977.
324. Weitzmann MN, Cenci S, Rifas L, et al. T cell activation induces human osteoclast formation via receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-dependent and -independent mechanisms. *J Bone Miner Res*. 2001;16:328-337.
325. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol*. 2006;169:987-998.

- 326.** Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*. 1999;402:304-309.
- 327.** D'Amelio P, Grimaldi A, Di Bella S, et al. Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cells activity: a key mechanism in osteoporosis. *Bone*. 2008;43:92-100.
- 328.** Kapetanovic S, Aaron L, Montepiedra G, et al. T-cell activation and neurodevelopmental outcomes in perinatally HIV-infected children. *AIDS*. 2012;26:959-969.
- 329.** Mekmullica J, Brouwers P, Charurat M, et al. Early immunological predictors of neurodevelopmental outcomes in HIV-infected children. *Clin Infect Dis*. 2009;48:338-346.
- 330.** Brown T, Currier J, Y. C, et al. The Association between Body Composition, Soluble and Cellular Immune Activation Biomarkers, and BMD in ART-naïve HIV-1+ Persons: Baseline Results of ACTG Study A5260s. [abstract 875]. Programm and abstract of the 19th Conference Retroviruses and Opportunistic Infections; 8-11 March 2012 Seattle, USA.
- 331.** Manavalan JS, Arpadi S, Shah J, et al. Replicative senescence of circulating osteogenic cells and low BMD in perinatally infected men. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections 2014; 2014; Boston, US.
- 332.** Abad-Fernandez M, Vallejo A, Hernandez-Novoa B, et al. Correlation between different methods to measure microbial translocation and its association with immune activation in long-term suppressed HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013;64:149-153.
- 333.** de Pablo P, Cooper MS, Buckley CD. Association between bone mineral density and C-reactive protein in a large population-based sample. *Arthritis Rheum*. 2012;64:2624-2631.
- 334.** Ding C, Parameswaran V, Udayan R, et al. Circulating levels of inflammatory markers predict change in bone mineral density and resorption in older adults: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:1952-1958.
- 335.** Hileman CO, Labbato DE, Storer NJ, et al. Is bone loss linked to chronic inflammation in antiretroviral-naïve HIV-infected adults? A 48-week matched cohort study. *AIDS*. 2014;28:1759-1767.
- 336.** Zamboni G, Antoniazzi F, Bertoldo F, et al. Altered bone metabolism in children infected with human immunodeficiency virus. *Acta Paediatr*. 2003;92:12-16.
- 337.** Gibellini D, Borderi M, De Crignis E, et al. RANKL/OPG/TRAIL plasma levels and bone mass loss evaluation in antiretroviral naïve HIV-1-positive men. *J Med Virol*. 2007;79:1446-1454.
- 338.** Vikulina T, Fan X, Yamaguchi M, et al. Alterations in the immuno-skeletal interface drive bone destruction in HIV-1 transgenic rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:13848-13853.
- 339.** Titanji K, Vunnava A, Sheth AN, et al. Dysregulated B cell expression of RANKL and OPG correlates with loss of bone mineral density in HIV infection. *PLoS Pathog*. 2014;10:e1004497.
- 340.** Viard JP, Souberbielle JC, Kirk O, et al. Vitamin D and clinical disease progression in HIV infection: results from the EuroSIDA study. *AIDS*. 2011;25:1305-1315.

341. Shepherd L, Souberbielle JC, Bastard JP, et al. Prognostic value of vitamin D level for all-cause mortality, and association with inflammatory markers, in HIV-infected persons. *J Infect Dis.* 2014;210:234-243.
342. Ansemant T, Mahy S, Piroth C, et al. Severe hypovitaminosis D correlates with increased inflammatory markers in HIV infected patients. *BMC Infect Dis.* 2013;13:7.
343. Ezeamama AE, Guwatudde D, Wang M, et al. Vitamin-D deficiency impairs CD4+T-cell count recovery rate in HIV-positive adults on highly active antiretroviral therapy: A longitudinal study. *Clin Nutr.* 2015.
344. Fabre-Mersseman V, Tubiana R, Papagno L, et al. Vitamin D supplementation is associated with reduced immune activation levels in HIV-1-infected patients on suppressive antiretroviral therapy. *AIDS.* 2014;28:2677-2682.
345. Bang U, Kolte L, Hitz M, et al. Correlation of increases in 1,25-dihydroxyvitamin D during vitamin D therapy with activation of CD4+ T lymphocytes in HIV-1-infected males. *HIV Clin Trials.* 2012;13:162-170.
346. Giacomet V, Vigano A, Manfredini V, et al. Cholecalciferol supplementation in HIV-infected youth with vitamin D insufficiency: effects on vitamin D status and T-cell phenotype: a randomized controlled trial. *HIV Clin Trials.* 2013;14:51-60.
347. Calton EK, Keane KN, Newsholme P, et al. The Impact of Vitamin D Levels on Inflammatory Status: A Systematic Review of Immune Cell Studies. *PLoS One.* 2015;10:e0141770.
348. Hwang YG, Hsu HC, Lim FC, et al. Increased vitamin D is associated with decline of naive, but accumulation of effector, CD8 T cells during early aging. *Adv Aging Res.* 2013;2:72-80.
349. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, et al. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:1420-1425.
350. Liu JJ, Prescott J, Giovannucci E, et al. Plasma vitamin D biomarkers and leukocyte telomere length. *Am J Epidemiol.* 2013;177:1411-1417.

9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1 Clasificación de los CDC 1994 de la infección pediátrica por VIH

Categorías clínicas

Categoría N: Asintomático

Niños que no tienen ninguno síntoma considerado secundario a la infección por VIH o que tienen un solo síntoma de la categoría A.

Categoría A: Sintomatología leve

Niños que tienen dos o más de los siguientes condiciones y ninguno de los considerados en categoría B o C:

- linfadenopatías ($\geq 0,5$ cm en más de dos localizaciones; bilateral = 1 localización)
- hepato o esplenomegalia
- parotiditis
- dermatitis
- infecciones recurrentes o persistentes del tracto respiratorio superior, sinusitis u otitis media.

Categoría B: Sintomatología moderada

Niños que presentan síntomas diferentes a los de las categorías A y C y que son atribuidos a la infección por VIH. Algunos ejemplos:

- Anemia (< 8 g/dL), neutropenia ($< 1.000/mm^3$) o trombopenia ($< 100.000/mm^3$) de más de un mes de evolución.
- Un episodio de infección bacteriana grave (sepsis, meningitis bacteriana, neumonía)
- Candidiasis orofaríngea (muguet) persistiendo > 2 meses en niños mayores de 6 meses
- Cardiomiopatía
- Diarrea recurrente o crónica
- Hepatitis
- Estomatitis herpética recurrente (> 2 episodios en un año)
- Esofagitis, bronquitis o neumonitis por el virus del herpes simple antes del mes de edad
- Herpes zóster de la menos 2 episodios o más de un dermatoma
- Leiomioma
- Neumonía intersticial linfocítica
- Nefropatía
- Nocardiosis
- Fiebre persistente de más de un mes
- Varicela diseminada
- Infección por CMV o toxoplasmosis antes del mes de vida.

Categoría C: Sintomatología grave- SIDA

Niños con las siguientes condiciones definitorias de SIDA, a excepción de la neumonía intersticial linfocítica (la cual se incluye en categoría B):

- Infecciones bacterianas graves, múltiples o recurrentes
- Candidiasis esofágica o del tracto respiratorio inferior
- Encefalopatía
- Coccidioidomicosis diseminada
- Criptococosis extrapulmonar
- Cryptosporidiasis o isosporiasis con diarrea persistente >1 mes
- Infección por CMV con edad mayor de un mes (que afecta a órganos diferentes que bazo, hígado o ganglios)
- Infección por virus herpes simple que causa úlcera mucocutánea de >1 mes de duración; o bronquitis, neumonitis o esofagitis por el virus del herpes simple en niños de más de un mes de edad
- Histoplasmosis diseminada
- Sarcoma de Kaposi
- Linfoma
- Infecciones diseminadas por micobacterias atípicas
- Infección por *Mycobacterium tuberculosis* diseminada o extrapulmonar
- Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva
- Septicemia recurrente por *Salmonella no typhi*
- Toxoplasmosis cerebral
- Síndrome caquético en ausencia de una enfermedad aparte de la infección VIH que pudiera explicar los siguientes hallazgos: a) pérdida de peso persistente >10% de la línea basal; o b) pérdida de peso durante el seguimiento de al menos dos percentiles de las tablas en los niños de edad superior a 1 año; y c) peso por debajo del percentil 5 de las tablas de peso para talla, en dos controles consecutivos separados al menos 30 días; además de: a) diarrea crónica (dos o más deposiciones por día durante al menos 30 días); o b) fiebre documentada (durante un mínimo de 30 días, intermitente o constante).

Categorías inmunológicas						
	< 12 meses		1-5 años		6-12 años	
	Recuento	%	Recuento	%	Recuento	%
1.- Inmunidad normal	≥ 1.500	≥ 25	≥ 1.000	≥ 25	≥ 500	≥ 25
2.-Inmunosupresión moderada	750- 1.499	15- 24	500- 999	15- 24	200- 499	5- 24
3.-Inmunosupresión grave	< 750	< 15	< 500	< 15	< 200	< 15

9.2. ANEXO 2 Resumen de los estudios publicados que evalúan la DMO/CMO en niños y adolescentes infectados por VIH por transmisión vertical.

	Diseño estudio	Descripción	Características Población VIH	País	Conclusión	Factores de riesgo
Mora et al 2001	Transversal	40 VIH vs. 314 sanos	Edad 6-17 años Raza blanca 100% TAR 87,5%	Italia	DMO menor en VIH en TAR respecto a sanos y naive, ajustado por edad, sexo, antropometría y área ósea	TAR, lipodistrofia
O'Brien et al 2001	Transversal	19 VIH vs. 483 sanos	Edad 9,2 ± 2,6 años* Raza negra 89,5%	EE.UU	Menor CMO a nivel corporal total en VIH, incluso tras ajuste por edad y talla	
Arpadi et al 2002	Transversal	51 VIH vs. 262 sanos	Edad 8,2 ± 2,6 años* Raza blanca 7,5% Raza Negra 41,5% TAR 94,1 %	EE.UU	Menor BMC a nivel corporal total en VIH Se mantiene tras ajuste por sexo, edad, raza, peso y talla	Mayor edad
Rojo et al 2004	Transversal	50 VIH	Edad 10,5± 5,3 años* TAR 100%	España	40% ZDMO < -1 4% ZDMO < -2,5	
Mora et al 2004	Longitudinal	32 VIH vs. 381 sanos	Edad 12,4 años Raza blanca 100% TAR 100%	Italia	DMO menor en VIH basal y al año, ajustado por edad, sexo, Tanner y peso. Mayor tasa de remodelamiento en VIH	
Stagi et al 2004	Transversal	44 VIH vs. 55 sanos	Edad 8,4 años Raza blanca 100% TAR 100%	Italia	Menor atenuación de ultrasonidos de banda ancha en niños con VIH con estadio C CDC respecto a sanos y VIH con estadio N-B	Estadio C CDC
Rosso et al 2005	Transversal	44 VIH vs. 1.227 sanos	Edad 3-17 años Raza blanca 100% TAR 88%	Italia	Menor velocidad de sonido y tiempo de transmisión ósea en VIH, incluso tras ajuste de edad y tamaño corporal.	Edad, edad ósea, talla, duración de TAR
Jacobson et al 2005	Transversal Longitudinal	37 VIH vs. 9 sanos 18 VIH vs. 5 sanos	Edad 11,6 años Raza negra 40% Raza blanca 24% TARGA 81%	EE.UU.	Menor ZDMO en VIH, ajustado por Tanner. La diferencia desaparece tras ajuste por peso y talla. Menor proporción de pacientes VIH con aumento de ZDMO en 1-3 años	Menor Z-score peso y talla, estadio avanzado, edad >8 años
Pitukcheewannot et al 2005	Transversal	58 VIH vs. 58 sanos	Edad 12 ±3,9 años* TARGA 93%	EE.UU.	Menor ZDMO en VIH medido por DXA, pero similar medido por TCC	
Mora et al 2007	Transversal	27 VIH vs. 336	Edad 12,6 ±3,9 años* Raza blanca 100% TAR 100%	Italia	Menor BMD en VIH, ajustado por edad, sexo y variables antropométricas	

Jacobson et al 2010	Transversal	236 VIH vs. 143 sanos	Edad 12,6 años Raza blanca 13% Raza negra 54,7% TAR 100%	EE.UU.	Menor ZDMO en varones con infección VIH con Tanner 5, ajustado por edad, raza, tipo de escáner, talla y masa magra corporal	LPV/r
Zuccotti et al 2010	Transversal	86 VIH vs. 194 sanos	Edad 4,8-22,1 TAR 82,5%	Italia	Menor ZDMO en VIH con IP o RTV a altas dosis o d4T, respecto a sanos, naive u otros regímenes de ARV	RTV a altas dosis y d4T
Schtscherbyna et al 2012	Transversal	74 VIH	Edad 17,3 ±1,8 años Raza blanca 36,5% TAR 92%	Brasil	32,4% ZDMO ≤ -2	TDF, estado nutricional y composición corporal
Puthanakit et al 2012	Transversal	101 VIH vs. 199 sanos	Edad 14,3 años Raza Thai 100% TAR 100%	Tailandia	24% ZDMO ≤ -2 Menor ZDMO en VIH	Talla baja y estadio 4 OMS
Lima et al 2013	Transversal	48 VIH	Edad 12,7 ± 2,7 años * Raza blanca 53,3% Raza negra/mixta 44% TAR 95,8%	Brasil	16, 7% ZDMO ≤ -2	IP
DiMeglio et al 2013	Transversal	350 VIH vs. 160 sanos	Edad 12,6 años Raza negra 66% Raza blanca 8% TAR 87%	EE.UU.	Menor ZDMO en VIH, ajustado por sexo, raza y Tanner. La diferencia desaparece tras ajuste por peso y talla. 7% ZDMO corporal total ≤ -2 y 4% a nivel lumbar	Lumbar: menor Z-score de peso, CD4 > 15%, pico de CV alto, IDV, actividad física
Bunders et al 2013	Longitudinal	66 VIH	Edad 6,7 años Raza negra 62% TAR 92%	Holanda	8% ZDMO ≤ -2 La duración de TAR se asoció con aumento de ZDMO	Pico de CV (CD4% y TAR efecto positivo)
Macdonald et al 2013	Transversal Longitudinal	31 VIH vs. 883 sanos 30 VIH	Edad 13,7 ± 2,6 años Raza blanca 13% Raza negra 26% TAR 71%	Canadá	Menor Z-score CMO corporal total, ajustado por talla y masa magra (no diferencia si ajuste por peso y talla). Aumento de Z-scores durante el seguimiento	CD4% (efecto positivo sobre Z-score de CMO corporal total)
Palchetti et al 2015	Longitudinal	35 VIH	Edad 9,6 ± 1,1 años* TAR 83%	Brasil	A los 2 años no mejoría en ZDMO lumbar y empeoramiento a ZDMO corporal total	

Edad en mediana, excepto especificado: * Media ± desviación estándar

