

**UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA**

**Estudio de la transmisión perinatal del virus  
de la inmunodeficiencia humana (VIH)**

**Autor: Padilla Pérez, Ana Isabel**

**Directores: José Luis Trujillo Carrillo  
y Javier Parache Hernández**

**Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría,  
Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología y Legislación Sanitaria**

## ***AGRADECIMIENTOS:***

*A Don Javier Parache Hernández*, jefe, maestro, de quien admiro su capacidad de trabajo, su humanidad, su disposición y el trato con los pacientes y con todo el personal que dirige con tan buen tacto. Gracias por su apoyo y la fe que ha prestado a mi trabajo.

*A José Luis Trujillo Carrillo*, por todas las enseñanzas que me ha inculcado desde el principio, su capacidad crítica, por la paciencia que ha sabido mantener conmigo. Sin su dedicación al proyecto y la ilusión que en él ha puesto no hubiera sido posible. Ha sido un compañero, profesor y amigo. Gracias por la confianza que has depositado en mí.

*A Candelaria García Castro* por la aportación de datos obtenidos. No sólo se trata de una buena profesional, su trato cordial y la disposición que ha mostrado, la convierte en una persona estimable.

*A Eduardo Salido*, científico y gran investigador, gracias por su colaboración y por el tiempo prestado.

*A Carmen Cortabarría*, que valientemente se ha incorporado a la lucha diaria para conseguir el control de esta enfermedad, sobre todo en esos “personajillos” inocentes que les ha tocado luchar contra la sociedad. Gracias por recopilar todos los datos posibles.

*A Antonio Catalán*, por el apoyo prestado en el campo de la informática.

A mis hermanos *Alicia*, una luchadora donde las haya, y *Roberto*, por su ayuda en el área de la informática, y *a mis padres*, que siempre han creído en mí.

*A José*: Tú que has apostado todo por mí, tu sacrificio y tu apoyo incondicional ha permitido que este proyecto haya salido adelante. En este momento, lo que soy te lo debo a ti.

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
I.-RESEÑA HISTÓRICA	1
II.-EPIDEMIOLOGÍA	2
IIA.- <u>Incidencia y prevalencia</u>	2
IIB.- <u>Factores de riesgo y protección para el contagio</u>	5
IIC.- <u>Factores virales y la transmisión</u>	6
IID.- <u>Particularidades epidemiológicas perinatológicas y en la mujer</u>	7
IID.1.-Factores de riesgo en mujeres	7
IID.2.-Virus del VIH y embarazo	9
IID.3.-Incidencia y prevalencia en la etapa perinatal	9
III.-CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS	11
IIIA.- <u>Los retrovirus</u>	11
IIIA.1.-Características generales de los retrovirus	11
IIIA.2.-Retrovirus humanos	12
IIIB.- <u>Estructura del VIH</u>	12
IIIB.1.-El ácido nucleico	13
IIIB.2.-Proteínas estructurales	14
IIIB.3.-Proteínas reguladoras	16
IIIC.- <u>Replicación del VIH</u>	17
IIID.- <u>Células objetivo de la infección</u>	19
IIIE.- <u>Patogenicidad</u>	20
IV.-ASPECTOS INMUNOLÓGICOS	21
IVA.- <u>Moléculas CD4 y otros receptores</u>	21
IVB.- <u>Linfocitos CD8</u>	23
IVC.- <u>Monocitos y macrófagos</u>	23
IVD.- <u>La actividad celular de la Natural Killer</u>	23
IVE.- <u>Inmunidad Humoral</u>	24
IVF.- <u>Efectos de la gestación en la enfermedad VIH</u>	24
IVG.- <u>Efectos del VIH en el embarazo</u>	26
V.-PLACENTA Y TRANSMISIÓN VERTICAL DEL VIH	27
VA.- <u>Anatomía placentaria aplicada</u>	28
VB.- <u>Anatomía patológica placentaria y VIH</u>	29
VB.1.-Corioamnionitis	30
VB.2.-Villitis	30
VB.3.-Infecciones oportunistas placentarias	30
VC.- <u>Estudios moleculares</u>	31
VD.- <u>Microscopía electrónica</u>	32
VE.- <u>Vitamina A</u>	32
VF.- <u>Mecanismos de defensa placentarios frente al VIH</u>	32
VF.1.-Retrovirus placentarios endógenos	32
VF.2.-Factores HLA	32
VF.3.-Citokinas placentarias	33
VF.4.-Exfoliación del trofoblasto	34
VI.-TRANSMISIÓN NO PERINATAL DEL VIH	34
VIA.- <u>Transmisión sexual</u>	34
VIA.1.-Infectividad de la pareja	35

## Índice

---

VIA.2.-Susceptibilidad de la pareja receptora	37
VIB.- <u>Transmisión a través de drogas de uso parenteral</u>	38
VIC.- <u>Transmisión a través de sangre y otros tejidos</u>	39
VID.- <u>Transmisión del VIH en el medio sanitario</u>	39
VIE.- <u>Otros modos de transmisión</u>	40
VII-TRANSMISIÓN PERINATAL DEL VIH	41
VIIA.- <u>Repercusiones clínicas del momento de la transmisión perinatal del VIH</u>	43
VIIIB.- <u>Factores de riesgo asociados con la transmisión perinatal</u>	44
VII.B.1.-Factores maternos y virales	44
VII.B.2.-Factores placentarios	46
VII.B.3.-Factores fetales	47
VII.B.4.-Factores intraparto	47
VII.B.5.-Factores del recién nacido	48
VII.B.6.-Factores de la leche materna	48
VIII.-PECULIARIDADES CLÍNICAS GINECOLÓGICAS DEL VIH	49
VIIIA - <u>Infecciones oportunistas</u>	49
VIIIB.- <u>Patología ginecológica no oncológica</u>	49
VIIIC.- <u>Patología ginecológica oncológica</u>	50
VIIID.- <u>Progresión de la enfermedad y supervivencia en comparación con los hombres</u>	52
IX.-PECULIARIDADES CLÍNICAS OBSTÉTRICAS DEL VIH	52
IXA.- <u>Influencia del VIH en la gestación</u>	52
IXB.- <u>Influencia de la gestación sobre el VIH</u>	53
X.-DETECCIÓN DEL VIH	53
XA.- <u>Respuesta serológica frente a la infección por VIH</u>	54
XB.- <u>Detección de los anticuerpos del VIH-1</u>	55
XB.1.-Inmunoanálisis	55
XB.2.-Pruebas de detección rápida	56
XB.3.-Pruebas combinadas	57
XB.4.-Pruebas de confirmación	57
XB.5.-Pruebas suplementarias	58
XC.- <u>Detección del antígeno p24</u>	58
XD.- <u>Cultivo viral</u>	59
XE.- <u>Técnicas de detección de ácidos nucleicos</u>	60
XE.1.-Hibridación <i>in situ</i>	61
XE.2.-Reacción en cadena de la polimerasa	61
XI.-TRATAMIENTO	63
XIA.- <u>Consideraciones previas al tratamiento</u>	63
XIB.- <u>Fármacos antirretrovirales</u>	66
XIB.1.-Nucleósidos análogos de la retrotranscriptasa inversa	66
XIB.2.-Análogos no nucleósidos de la retrotranscriptasa inversa	70
XIB.3.-Inhibidores de la proteasa	71
XIC.- <u>Terapia antirretroviral durante la gestación</u>	73
XIC.1.-Ensayo ACTG 076	75
XIC.2.-AZT: mecanismo de acción, dosis y resistencias en la quimioprofilaxis de la transmisión perinatal	76

XIC.3.-Resultados del ensayo ACTG 076	77
XIC.4.-Transmisión perinatal y número de copias de ARN VIH-1	79
XIC.5.-Fármacos antirretrovirales y lactancia	80
XID.- <u>Nuevas estrategias terapéuticas: terapia combinada</u>	80
XIE.- <u>Recomendaciones durante la gestación, parto y postparto</u>	82
XIE.1.-Seguimiento preparto	82
XIE.2.-Recomendaciones intraparto	83
XIE.3.-Actuación neonatal	84
XIE.4.-Seguimiento postparto de la mujer y el recién nacido	84
<b>JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO</b>	<b>89</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>91</b>
I.-POBLACIÓN DE EMBARAZADAS PORTADORAS DE VIH	91
II.-POBLACIÓN DE PLACENTAS, FETOS Y RECIÉN NACIDOS	95
III.-METODOLOGÍA CLÍNICA ASISTENCIAL	96
IIIA.- <u>Gestantes que decidieron la interrupción voluntaria del embarazo</u>	96
IIIA.1.-Control analítico	96
IIIA.2.-Asistencia a la I.V.E.	97
IIIB.- <u>Embarazadas que decidieron continuar con la gestación</u>	97
IIIB.1.-Control clínico durante el embarazo	97
IIIB.2.-Control analítico	98
IIIB.3.-Pruebas complementarias de bienestar fetal	99
IIIB.4.-Tratamiento antirretroviral durante la gestación	100
IIIB.5.-Asistencia al parto	101
IIIC.- <u>Control neonatal del recién nacido</u>	103
IV.-METODOLOGÍA: TÉCNICAS ANATOMO PATOLÓGICAS Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR	104
IVA.- <u>Protocolo general de recogida de placentas</u>	104
IVB.- <u>Anatomía patológica</u>	104
IVB.1.-Placentas a término	105
IVB.2.-Feto y estructura placentaria de las interrupciones voluntarias de embarazo	106
IVC.- <u>Hibridación <i>in situ</i> (HIS)</u>	106
V.- METODOLOGÍA DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS ESPECÍFICAS	111
VA.- <u>Citometría de flujo para estudio de las subpoblaciones linfocitarias</u>	111
VB.- <u>Metodología del test de Western-Blot</u>	112
VC.- <u>Metodología de determinación del antígeno p24</u>	115
VD.- <u>Carga viral</u>	115
VI.-ESTUDIO ESTADÍSTICO	115

<b>RESULTADOS</b>	<b>119</b>
I.-RESULTADOS ANALÍTICOS	119
IA.- <u>Hemograma</u>	119
IB.- <u>Bioquímica</u>	119
IC.- <u>Proteinograma</u>	120
ID.- <u>Marcadores de progresión</u>	120
II.-RESULTADOS CLÍNICOS	165
IIA.- <u>Curso de la gestación</u>	165
IIB.- <u>Control del bienestar fetal</u>	166
IIC.- <u>Parto</u>	173
III.-RESULTADOS ANATOMO-PATOLÓGICOS	178
IV.-RESULTADOS DE LA HIBRIDACIÓN <i>IN SITU</i>	178
V.-SEGUIMIENTO DEL RECIÉN NACIDO	179
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>217</b>
I.-ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	217
II.-EFECTO DE LA GESTACIÓN SOBRE EL CURSO DEL VIH	218
III.-TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	226
IV.-EFECTO DEL VIH SOBRE EL CURSO DE LA GESTACIÓN	229
V.-TRANSMISIÓN PERINATAL	232
VI.-ANATOMÍA PATOLÓGICA	240
VII.-HIBRIDACIÓN <i>IN SITU</i>	242
VIII.-SEGUIMIENTO PEDIÁTRICO	242
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>245</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>247</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>275</b>

## ***INTRODUCCIÓN***

---

## I. -RESEÑA HISTORICA

En junio de 1981 *Gottlieb*<sup>1</sup> describe los primeros casos de un nuevo proceso, el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). A partir de ese momento y ante la creciente comunicación de nuevos eventos de la enfermedad, se inició la búsqueda del posible agente causal. Ese mismo año el Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta (C.D.C.) estableció una definición y comenzó la vigilancia epidemiológica: se requería de la aparición de una inmunodeficiencia con reducción de los linfocitos T y asociación con infecciones oportunistas y Sarcoma de Kaposi. Inicialmente se relacionó con agentes infecciosos conocidos como el virus Epstein-Barr, hepatitis B, herpes simple, citomegalovirus, virus de la peste porcina, etc<sup>2</sup>.

Otra hipótesis etiopatogénica fue considerar, al igual que existen virus en distintas especies animales que producen inmunosupresión, tales como parvovirus o los retrovirus, que existiera uno en la especie humana que fuera el responsable de este proceso patológico. En esta línea de trabajo, ya en febrero de 1982 *Robert Gallo* formuló una hipótesis donde asociaba el SIDA a un retrovirus linfotrópico, posiblemente relacionado con los primeros retrovirus humanos HTLV-I y HTLV-II. En mayo de 1984 *Gallo*<sup>3</sup> y colaboradores describen un virus relacionado con la familia de los retrovirus humanos, el HTLV-III, obtenido a partir del suero de pacientes con SIDA. A su favor estaba la demostración de la transmisión del SIDA por transfusiones sanguíneas y otros productos hemáticos filtrados, además de los asociados a contactos homosexuales repetidos con penetración anal o el uso de drogas intravenosas.

El 20 de mayo de 1983, *Luc Montagnier* y su grupo de investigadores del Instituto Pasteur de París<sup>4</sup>, describieron el aislamiento de un retrovirus, a partir del cultivo vírico de un ganglio linfático extraído de un paciente con adenopatías generalizadas, al que denominaron virus asociado a linfadenopatía (LAV). Este presentaba reacciones cruzadas con el HTLV-I, aunque esta apreciación no era concluyente. Prácticamente de forma simultánea, el grupo de *Robert Gallo* del Instituto Nacional del Cáncer (N.C.I.) de Bethesda, Estados Unidos, anunció el hallazgo de un retrovirus, el HTLV-I, a partir de un enfermo del SIDA<sup>5</sup>. Ese mismo año, *Gellmann* y colaboradores comunicaron la presencia de ADN provírico de un retrovirus tipo HTLV-I en dos pacientes con SIDA<sup>6</sup>.

Finalmente, en julio de 1984 el grupo de Pasteur, en colaboración con el CDC, llegó a la conclusión de la existencia de una asociación entre el SIDA y el HTLV-III y, además, que el LAV y el HTLV-III eran el mismo agente. En 1985, ambos grupos publicaron los datos moleculares que demostraban la identidad de ambos virus, estableciendo diferencias de 1.5% en su composición de nucleótidos<sup>7</sup>. A partir de este momento, el posteriormente denominado virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), fue reconocido universalmente como el agente causal del SIDA. Más recientemente se ha creado una polémica entre los grupos de *Gallo* y *Montagnier*, en relación con la posible existencia de cofactores en el desarrollo del SIDA<sup>8</sup>. En la actualidad se admite que el VIH es el único origen, aunque existen cofactores que aceleran el progreso de la enfermedad y hasta es posible que la condicionen.

Parece que la hipótesis más creíble sugiere que el VIH deriva de un progenitor simiano, dada la íntima relación entre el VIH-1 y el virus de la inmunodeficiencia chimpancé (hasta un 84% de homología), o del VIH-2 con la del virus del mangabey tizado (del 82-89%) y del macaco (82-86%)<sup>9</sup>. El probable origen africano se basa, además, en la existencia de virus de simios muy similares a los humanos. El VIH tiene una gran difusión en África Central y está bien documentada la inyección de sangre de mono a hombre en ciertas tribus<sup>10</sup>. Una vez infectado un hombre del bosque africano, su paso al mundo urbano y la posterior difusión se explicarían a través de los fenómenos demográficos y sociales que han tenido lugar en ese continente. La difusión del VIH en el mundo Occidental merece una mención especial. Por un lado la masiva extracción de sangre para la producción de factores de coagulación: para obtener un lote de factor VIII se precisa de 15000 a 20000 donaciones distintas; y un solo donante contaminado sería capaz de alterar el lote y luego contaminar a una gran cantidad de personas. Por otro lado, se ve favorecida por el amplio período de incubación (8-10 años de media)<sup>11</sup>. La rápida difusión del VIH se produjo entre homosexuales, promiscuos, usuarios de drogas de uso parenteral que compartían aguja y jeringas, hemofílicos y pacientes con otras discrasias hemáticas que requerían factores de coagulación, así como aquellas poblaciones que recibían inyecciones sin garantías de esterilización.

Desde la identificación inicial del VIH en 1983 se ha aprendido mucho sobre el organismo, transmisión y sus mecanismos patogénicos. El VIH se transmite a través del contacto sexual, el uso de drogas vía parenteral con agujas contaminadas, sangre y productos sanguíneos durante las transfusiones, y la transmisión materno-fetal<sup>11,12,13,14</sup>. Aunque la afectación de las células de defensa podría ocurrir antes o al mismo tiempo de la seroconversión, la infección se sigue de un característico largo período de latencia clínica, con un período medio de aproximadamente 10 años. Durante el período de quiescencia clínica continúa la replicación viral y se asocia con una afectación gradual de la competencia inmune. Los pacientes progresivamente quedan inmunodeprimidos, y así las infecciones oportunistas y el desarrollo de enfermedades malignas son los responsables de la morbilidad y mortalidad de la enfermedad.

## **II.-EPIDEMIOLOGÍA**

### **IIA.-INCIDENCIA Y PREVALENCIA**

La pandemia del VIH ha continuado sin disminuir durante los años noventa. El número de personas que están infectadas a lo largo del mundo se ha triplicado, de 10 millones en 1990 hasta 30 millones al final de 1996. La Organización Mundial de la Salud y la Organización de Naciones Unidas para el SIDA estimó que a finales del año 2000 el número de adultos y niños seropositivos en el ámbito mundial alcanzarían los 36.1 millones. Habrán fallecido desde el comienzo de la epidemia unos 21.8 millones entre adultos y niños, unos 3 millones en el año 2000. En la figura 1 se refleja la distribución mundial del VIH a finales del año 2000.

Fundamentalmente residen en el África Subsahariana, donde alcanzan 25.3 millones de afectados. Esta es la región del mundo más duramente golpeada. Seguidamente, el sur y sudeste de Asia alcanzan los 6.4 millones entre adultos y niños. En Latinoamérica y el Caribe se han contabilizado 1.8 millones a finales del año 2000. Las regiones donde más se han incrementado el número de infectados hasta el año 2000 son el este de Europa y Asia Central, registrando 250.000 casos nuevos, que en su mayoría se deben al consumo de drogas vía parenteral.

En resumen, el HIV/SIDA continúa aumentando en todas las regiones del mundo, aunque un número importante de seropositivos puede vivir durante largo tiempo y con buena calidad de vida, gracias a las nuevas terapias antirretrovirales.

En España, el número de nuevos casos de VIH ha disminuido en los últimos cinco años más de un 60% gracias a las campañas de prevención como por la mejora en la asistencia sanitaria, fundamentalmente por la aparición de los nuevos y más potentes antirretrovirales. El mayor descenso se registró entre 1996 y 1997, en los años posteriores se ha estabilizado la incidencia. Los últimos cinco años ha disminuido un 64% de diagnósticos de casos nuevos, gracias tanto a la prevención como a la asistencia sanitaria. Desde 1981 hasta junio de 2000 se han acumulado 59466 seropositivos, aunque se ha notificado el fallecimiento del 53.3%. En los nuevos casos sigue predominando el sexo masculino. La edad media de diagnóstico sigue ascendiendo, habiendo pasado de los 29 años en 1985 a los 37.4 años en 1999. Sólo un 0.5% son menores de 13 años. En la tabla 1 y gráfico 1 queda recogida información epidemiológica del Sida en España, actualizada a noviembre y junio respectivamente, del año 2000.

La fuente más frecuente de transmisión, tanto para hombres como para mujeres, es el material de inyección compartido para la administración parenteral de drogas (56%). La transmisión heterosexual no protegida representa el 22%, pero adquiere mayor importancia en las mujeres donde representa el 32%, observándose un progresivo incremento en la proporción de casos debidos a la transmisión sexual, en detrimento de los causados por material contaminado para inyección de drogas. Tras la fuerte caída de la transmisión materno-fetal que se experimentó entre 1995 y 1998, el ritmo de descenso ha continuado. Se ha contabilizado una caída global del 85%.

Por comunidades autónomas, las tasas por cada 10<sup>6</sup> habitantes, con fecha de actualización del 31 de diciembre de 2000 y por orden de frecuencia fueron Baleares, Madrid, Vizcaya, Barcelona y Guadalajara.

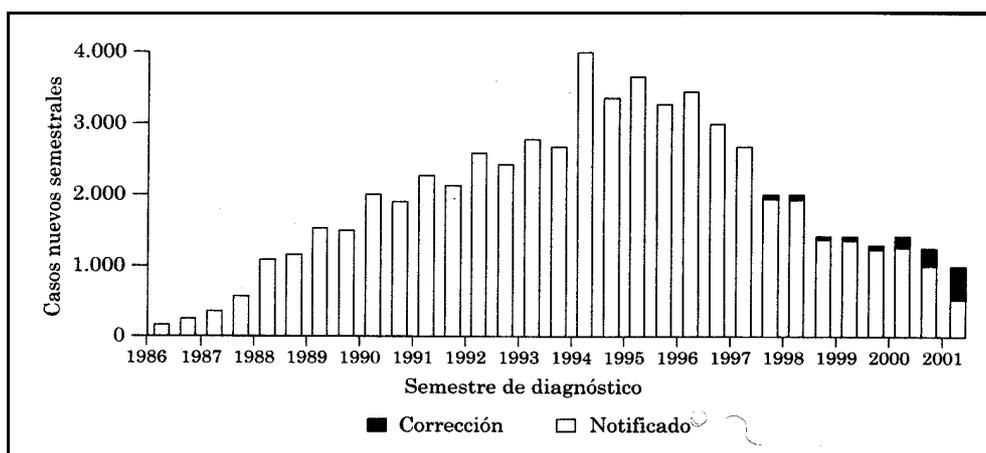
En Canarias se ha registrado hasta el 31 de diciembre de 2000, 1474 seropositivos, de los cuales se ha notificado la defunción de un 41.4%. En 1999 y 2000 se diagnosticaron 104 y 53 casos nuevos, respectivamente. Como observamos, se sigue manteniendo el descenso anual descrito en la totalidad del territorio español, gracias al plan nacional contra el SIDA. De la misma manera que en el resto del territorio español, la vía de transmisión que más casos origina a nivel regional, es en usuarios de drogas por vía parenteral (45.3%). Por provincias, en Las Palmas el factor que más casos origina es el de transmisión sexual (57.7%). En Tenerife coincide con los datos nacionales (51.8% a través de drogas de uso parenteral). El grupo de edad más frecuente está comprendido entre los 35-44 años (50% en

## Introducción

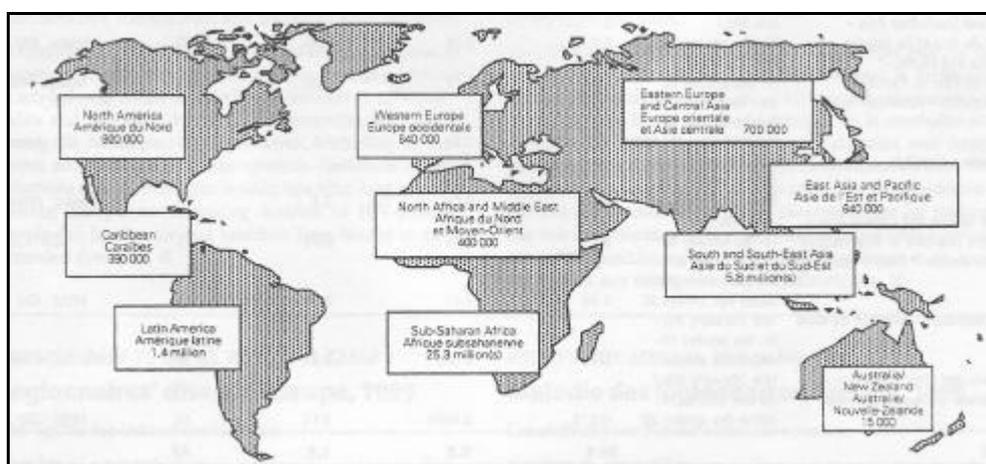
hombres y un 55.4% para mujeres). Sigue predominando en los nuevos casos el sexo masculino. La tasa de incidencia en Canarias en el año 2000 fue de 3.37/100.000 habitantes<sup>15</sup>.

Sexo	Edad	<96	1996	1997	1998	1999	Total	%
<b>Total</b>	<b>Total</b>	<b>35.833</b>	<b>6935</b>	6064	<b>4197</b>	<b>3462</b>	<b>56.491</b>	
	0-4	562	60	43	27	23	715	1.3
	5-9	101	13	12	5	7	138	0.2
	10-14	71	8	13	4	5	101	0.2
	15-19	291	48	24	14	20	397	0.7
	20-24	3323	320	261	147	133	4184	7.4
	25-29	10563	1394	1104	661	517	14239	25.2
	30-34	1.522	2365	1968	1296	905	17056	30.2
	35-39	4785	1444	1332	1019	889	9469	16.8
	40-49	3523	833	847	632	601	6436	11.4
	50-59	1257	260	268	227	190	2202	3.9
	60+	736	166	167	142	120	1331	2.4
NS	99	24	25	23	52	223	0.4	
<b>Mujeres</b>	<b>Total</b>	<b>6628</b>	<b>1452</b>	<b>1229</b>	<b>880</b>	<b>705</b>	<b>10.894</b>	
	0-4	278	33	21	18	10	360	3.3
	5-9	36	7	8	3	3	57	0.5
	10-14	10	2	5	2	2	21	0.2
	15-19	69	10	6	7	5	97	0.9
	20-24	911	108	93	43	34	1189	10.9
	25-29	2326	385	280	184	132	3307	30.4
	30-34	1778	497	413	289	201	3178	29.2
	35-39	626	256	226	200	158	1466	13.5
	40-49	316	108	119	97	114	754	6.9
	50-59	144	26	33	21	17	241	2.2
	60+	119	19	18	16	14	186	1.7
NS	15	1	7	0	15	38	0.3	
<b>Hombres</b>	<b>Total</b>	<b>29.205</b>	<b>5.483</b>	<b>4835</b>	<b>3317</b>	<b>2757</b>	<b>45.597</b>	
	0-4	284	27	22	9	13	355	0.8
	5-9	65	6	4	2	4	81	0.2
	10-14	61	6	8	2	3	80	0.2
	15-19	222	38	18	7	15	300	0.7
	20-24	2412	212	168	104	99	2995	6.6
	25-29	8237	1009	824	477	385	10932	24.0
	30-34	8744	1868	1555	1007	704	13878	30.4
	35-39	4159	1188	1106	819	731	8003	17.6
	40-49	3207	725	728	535	487	5682	12.5
	50-59	1113	234	235	206	173	1961	4.3
	60+	617	147	149	126	106	1145	2.5
NS	84	23	18	23	37	185	0.4	

**Tabla 1.-Casos recogidos por edad y sexo anualmente. Información epidemiológica del Sida en España. Actualización a noviembre de 2000. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).**



**Gráfico 1.** -Casos notificados hasta junio de 2000. Datos corregidos por el retraso en la notificación. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).



**Figura 1.**-Distribución mundial del VIH/SIDA a finales del año 2000. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).

## IIB.-FACTORES DE RIESGO Y PROTECCIÓN PARA EL CONTAGIO

Se ha encontrado una progresión más rápida entre hombres homosexuales en quienes se han identificado factores de riesgo como ciertos subtipos de HLA, cadenas más virulentas, etc<sup>21</sup>.

Con respecto a los factores inmunogenéticos, tras muchos trabajos realizados entre hombres blancos homosexuales y con prácticas sexuales de riesgo, se ha encontrado que aquellos que son homocigotos para la base 32, con la delección sobre el receptor CCR5 del gen de las células CD4 están protegidos contra la infección. Existe evidencia de que los heterocigotos para el receptor mutante CCR5 tienen protección contra la adquisición del VIH-1. De forma similar, una investigación llevada a cabo en España con 38 parejas de las cuales 10 se

seroconvirtieron, no encontró un incremento del polimorfismo en el receptor CCR5 para los compañeros que quedaron libres de la infección en comparación con la población general<sup>22</sup>.

En los primeros años del SIDA, las mujeres afectadas eran residentes de áreas metropolitanas incrementándose con el tiempo su difusión hacia áreas rurales<sup>16</sup>.

Actualmente el porcentaje de casos de SIDA en mujeres atribuido a transmisión heterosexual está aumentando de forma progresiva<sup>17</sup>. Aunque la mayor parte de la transmisión del VIH en mujeres continúa relacionándose con el uso de drogas vía parenteral, ya sea directamente o como resultado de la transmisión sexual de un compañero usuario de dichas drogas<sup>14</sup>.

Los factores coadyuvantes asociados a un mayor riesgo de transmisión a una pareja no infectada incluyen la gravedad de la enfermedad y una tasa de linfocitos T CD4 más baja<sup>18,19</sup>. El incremento de la carga viral (CV) en el semen ha sido asociado con enfermedad en estado avanzado<sup>20</sup>.

Por otro lado, *Fowke y colaboradores*<sup>23</sup>, registraron en un grupo de prostitutas de Nairobi, durante en un período de observación de 3 a 8 años, que la mayoría se seroconvirtió, pero un grupo quedó seronegativo a pesar de prácticas de alto riesgo sin protección. Este factor de resistencia se asoció con la posibilidad de mutaciones en el correceptor CKR5-HIV-1. En otros trabajos asocian el carácter de resistencia a determinados complejos de histocompatibilidad<sup>24</sup>. Otros a la presencia de linfocitos T citotóxicos contra el gen *env* y *gag*<sup>25</sup>.

Otros investigadores han visto que *in vitro*, en estas mujeres, los linfocitos T CD8 tienen mayor actividad extracelular anti-VIH-1 en comparación con los linfocitos de las mujeres control no expuestas, y que los linfocitos T CD4 son también menos susceptibles a la infección. Estudios de laboratorio sugieren que la resistencia podría estar relacionada con las quimiocinas RANTES, MIP1, ALPHA, y la actividad  $\beta$  MIP-1<sup>26</sup>.

## IIC.-FACTORES VIRALES Y LA TRANSMISIÓN

Investigaciones sobre la CV plasmática y su distribución en los compartimientos indican que ambos están relacionados. Por otro lado, también existen datos que nos indican que las drogas antirretrovirales reducen la CV en las secreciones vaginales y semen, disminuyendo potencialmente el riesgo de transmisión sexual en estos individuos<sup>20</sup>.

Con respecto a las características fenotípicas virales y el riesgo de transmisión, la mayoría de las infecciones primarias del VIH están asociadas con la adquisición del fenotipo No Inductor de Sincitio (NSI) tanto en la transmisión sexual como en la perinatal. Por otro lado, las cepas de VIH SI (Inductor de Sincitio) aparecen más frecuentemente entre hombres homosexuales que entre hombres adictos a drogas vía parenteral<sup>27</sup>. Además, se ha relacionado la progresión de la enfermedad con el paso de NSI al virus SI<sup>27</sup>.

Los investigadores han dirigido su atención sobre la diversidad de la población del virus adquirido actualmente a través de la transmisión heterosexual. *Poss y colaboradores*<sup>28</sup> observaron gran heterogeneidad en la población de virus detectados en las secreciones vaginales y sangre periférica tras la seroconversión, en 5 de cada 6 mujeres keniatas.

En relación con el genotipo viral, se ha detectado en África y Asia una concordancia entre los subtipos y el tipo de transmisión. Se ha registrado que el subtipo B aparece más frecuentemente entre personas ADVP y homosexuales, mientras que el subtipo E, entre parejas heterosexuales<sup>29</sup>.

Además, *Soto Ramírez y colaboradores*<sup>29</sup> sugieren que las células de Langerhans que se encuentran en el cérvix y la mucosa vaginal son la vía de entrada de la infección para ciertos subtipos. Otros investigadores no creen que haya evidencia suficiente que apoye esta opinión y apuntan que todos los subtipos del VIH-1 se han asociado con la transmisión heterosexual.

### IID.-PARTICULARIDADES EPIDEMIOLÓGICAS PERINATOLÓGICAS Y EN LA MUJER

La incidencia del SIDA está aumentando con mayor rapidez en mujeres que en hombres, y como resultado, el porcentaje de casos en mujeres se ha incrementado de modo constante del 7% en 1985, a un 20% en noviembre de 2000.

#### IID.1.-FACTORES DE RIESGO EN MUJERES

Mundialmente, la relación de tipo heterosexual sin protección es el principal factor de riesgo para la infección por VIH en mujeres adolescentes y adultas<sup>12,13</sup>. La tendencia actual afecta particularmente a adultos jóvenes<sup>15</sup>. Culturalmente, la iniciación de las relaciones sexuales comienza mucho más temprano en mujeres. Además, las parejas de éstas son a menudo hombres de mayor edad con mayor probabilidad de estar infectados por el SIDA<sup>15</sup>.

Los datos sugieren que la transmisión hombre a mujer del VIH-1 es más eficiente que la de mujer a hombre. En un estudio realizado en California se determinó que el riesgo de transmisión hombre a mujer era 17 veces más alto que el de mujer a hombre<sup>30</sup>. Otro trabajo hecho en Italia con 730 parejas estables registró dos veces mayor eficacia en la transmisión de hombre a mujer, que cuando se comparaba mujer a hombre<sup>31</sup>.

A continuación analizaremos aquellos factores de riesgo relacionados con la transmisión del VIH en las mujeres:

a) Las enfermedades de transmisión sexual (ETS), particularmente aquellas asociadas a úlceras genitales están más fuertemente asociadas a un incremento del riesgo de infección por VIH. *Tumwesigye y colaboradores*<sup>32</sup> en 1996 registraron en

las 333 mujeres con clínica de ETS atendidas en Kampala, Uganda, una duplicación del riesgo de cervicitis y un riesgo cuatro veces superior de úlceras genitales en mujeres VIH en comparación con mujeres no infectadas. La sífilis se ha relacionado a un incremento del riesgo de VIH en Estados Unidos y otros países desarrollados<sup>33</sup>.

También las ETS no ulcerativas se han asociado con un incremento del riesgo por VIH. En un estudio en Kinshasha, Zaire, registraron un mayor riesgo para la transmisión del VIH en mujeres con gonorrea, clamidias y tricomonas<sup>34</sup>. Asociaciones similares de ETS con la infección por VIH se han notificado en países industrializados.

Un trabajo realizado en Tailandia encontró asociación entre antecedente de ETS, historia de vaginosis bacteriana y el riesgo de infección por VIH en mujeres prostitutas de Chiang Mai<sup>35</sup>. En Amsterdam, mujeres VIH con historia de prostitución y adicción a drogas revelan un incremento 8 veces mayor de padecer herpes genital, 16 veces de verrugas genitales y un moderado incremento de riesgo de candidiasis, tricomonas y gonorrea<sup>36</sup>.

Se ha registrado una fuerte asociación entre ETS y la infección por VIH en gestantes. En Estados Unidos registraron entre 101 mujeres gestantes seropositivas comparadas con 97 gestantes seronegativas, una mayor presencia de ETS entre las mujeres infectadas frente a las que no lo estaban<sup>37</sup>.

Lo que no está claro en los estudios epidemiológicos es que aunque las ETS sean marcadores de alto riesgo, pueda ser razón directa de mayor posibilidad de transmisión. Datos obtenidos de estudios observacionales de tipo longitudinal realizados en los Estados Unidos y África, así como los resultados de un ensayo clínico hecho en Tanzania, sugieren que esto último es cierto. Se ha documentado que existe riesgo de seroconversión al VIH cuando la enfermedad de transmisión sexual estaba presente antes<sup>38</sup>. Los resultados de Tanzania indican que en los individuos que reciben tratamiento para las ETS se demuestra una reducción del 40% de la incidencia del VIH a los 2 años de seguimiento, cuando se compara con individuos que no disponen de tratamiento para las ETS<sup>39</sup>.

b) Drogadicción: al comienzo de la epidemia en Estados Unidos y algunos países de Europa el abuso de drogas ilícitas era la vía más frecuente de adquisición del virus en mujeres. Los factores que tenían una importante asociación eran los comportamientos de alto riesgo, como el incrementado número de parejas sexuales y el hecho de compartir agujas para la inyección de droga vía parenteral<sup>14</sup>.

c) Utilización de anticonceptivos hormonales orales (ACO): el papel de los ACO en el riesgo de transmisión del VIH es incierto. Razones teóricas son el efecto de las propias hormonas que llevaría a un incremento del riesgo de transmisión por VIH: ectopia cervical más amplia, cambios en los patrones menstruales normales, efectos locales de la progesterona que ocasiona un adelgazamiento del epitelio vaginal y cambios en el moco<sup>40,41,42</sup>.

Ensayos recientes con animales tratados (implantes de progesterona) han demostrado una mayor tendencia a convertirse a VIH como consecuencia de la disminución de la barrera física de la pared vaginal, convirtiendo a las células

dendríticas de Langerhans en un epitelio más susceptible<sup>43</sup>. Mientras que otros estudios epidemiológicos sugieren que los factores asociados a la transmisión por las mucosas son complejos y la inmunidad en la vagina debería ser un componente crítico para el control de la transmisión. Muchos investigadores han estudiado el impacto del tratamiento hormonal sobre la respuesta inmune de las mucosas. *White y colaboradores*<sup>44</sup> demostraron que la inmunidad celular puede estar afectada por el estado del ciclo menstrual en la mujer. Los linfocitos T citotóxicos disminuyen durante la fase secretora postovulación. Estos hallazgos indican que el efecto no es simplemente una disminución en la pared vaginal, sino un efecto en la *down-regulation* de los mediadores celulares.

En un estudio realizado en 1994 con 2285 mujeres atendidas en centros de planificación familiar, no se encontró mayor riesgo de infección entre mujeres que tomaban ACO. Sin embargo, sí se detectó un incremento significativo en mujeres que usaban dispositivos intrauterinos (DIU)<sup>45</sup>. Otro trabajo realizado con 4404 mujeres tratadas en centros de planificación familiar, no registró mayor riesgo de VIH en aquellas que tomaban ACO, hormonas administradas por vía intramuscular o utilizaban DIU; aunque había una tendencia, no estadísticamente significativa, a ser portadoras dos años después<sup>46</sup>.

En unas 1458 mujeres de Ruanda, *Allen y colaboradores*<sup>47</sup> señalaron, aunque no de forma estadísticamente significativa, una mayor prevalencia de VIH entre mujeres que usaban hormonas como medios contraceptivos que entre aquellas que no las usaban. En 1585 prostitutas de Kenia, la seroconversión estaba significativamente asociada al uso de Depo-Provera® y una asociación límite con el uso de contraceptivos orales. El VIH estaba relacionado también a un incremento significativo de la presencia de úlceras genitales, gonorrea y lesión vaginal, destacando la posibilidad que las ETS y las actividades sexuales de alto riesgo pudieran ser factores de confusión en la asociación de los contraceptivos y el VIH<sup>48</sup>.

### IID2.-VIRUS DEL VIH Y EMBARAZO

En principio, la tasa de embarazos en mujeres con infección inicial podría compararse con aquellas no infectadas con características demográficas similares. Tanto el asesoramiento prenatal sistemático, como la realización de pruebas para VIH de manera voluntaria llevará a un aumento en el número de mujeres detectadas, así como de forma más precoz. Ello podrá ofrecerles mejores opciones de tratamiento y asesoramiento por los especialistas, con la finalidad de obtener beneficios para las madres y sus futuros hijos<sup>49</sup>.

### IID3.-INCIDENCIA Y PREVALENCIA EN LA ETAPA PERINATAL

La transmisión del virus de madre a hijo contribuye con casi todos los nuevos casos de infección por VIH en niños. Entre 1988 y 1993 la incidencia era la resultante de multiplicar el número de partos de mujeres VIH positivas por el cálculo

## Introducción

de la tasa de transmisión perinatal (25%). Así, el número de lactantes infectados al nacer aumentó espectacularmente a finales del decenio de los ochenta, de manera paralela al crecimiento de la infección por VIH en mujeres.

La aparición de la zidovudina marcó un descenso en el riesgo de transmisión perinatal, con disminución en la incidencia<sup>50,51</sup>.

Por otro lado, el diagnóstico y la intervención tempranos tienen importancia crítica para la prevención de la morbilidad vinculada con el virus en lactantes. El tratamiento óptimo de la infección depende del pronto reconocimiento de ésta en las madres. Así, la vigilancia de embarazos en mujeres VIH nos permite valorar la evolución de la infección y sopesar el impacto de los programas de prevención<sup>49</sup>.

Evidentemente, el método más eficaz para prevenir la infección en los niños es evitar la transmisión a mujeres. Por lo que deben dirigirse esfuerzos adicionales a la prevención de la transmisión sexual, alentando la detección del riesgo y el uso del preservativo; y para la prevención de transmisión vinculada con drogas, evitando el abuso de sustancias o disminuyendo la práctica de inyecciones inseguras en los usuarios de estas sustancias.

En la tabla número 2 queda recogido el número de casos distribuidos por sexo y vía de transmisión, así como el año de diagnóstico indicativo del caso.

AÑO	UDI		H/B		Hemodvd		Transfusión		Madre-hijo		HeteroS		Total	
	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M
1981	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
1982	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1
1983	5	-	4	4	-	1	1	-	-	-	-	-	14	1
1984	18	2	11	12	-	-	1	1	-	-	-	-	47	3
1985	94	14	37	18	-	1	-	3	3	-	2	155	19	
1986	244	62	88	40	3	8	1	10	13	4	11	401	91	
1987	575	130	209	45	2	9	10	16	16	21	24	895	187	
1988	1267	300	340	74	3	19	12	52	38	52	42	1856	396	
1989	1791	352	519	77	8	17	14	36	52	103	79	2613	515	
1990	2195	494	584	66	1	22	19	33	35	173	120	3187	690	
1991	2450	577	699	73	3	24	20	41	44	216	159	3696	837	
1992	2658	613	788	48	8	26	18	42	39	277	231	4072	947	
1993	2868	665	797	50	5	18	12	48	36	365	270	4393	1042	
1994	4036	918	904	61	7	14	10	46	34	568	406	5859	1444	
1995	3737	863	941	49	7	9	13	35	45	597	415	5598	1402	
1996	3394	804	756	42	7	9	7	20	28	637	434	5105	1333	
1997	2390	538	510	17	5	11	3	12	25	518	312	3659	946	
1998	1597	403	415	10	-	3	1	9	9	432	235	2640	706	
1999	1206	271	303	4	4	4	5	7	6	317	165	2027	509	
2000	332	68	72	2	-	1	-	-	3	93	57	553	143	
N.C	58	17	10	3	-	1	-	-	-	5	2	86	19	
<b>Total</b>	<b>30915</b>	<b>7092</b>	<b>7989</b>	<b>697</b>	<b>63</b>	<b>197</b>	<b>147</b>	<b>411</b>	<b>426</b>	<b>4378</b>	<b>2964</b>	<b>46860</b>	<b>11231</b>	

**Tabla 2.-**Casos de Sida según categoría de transmisión y sexo, y año de diagnóstico indicativo de caso. Actualización a junio de 2000. UDI: usuarios de drogas inyectables; H/B: homosexual/bisexual; Hemodvd: hemoderivado; HeteroS: heterosexual; H: hombres; M: mujeres. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).

### III.-CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

#### III.A.-LOS RETROVIRUS

Definidos por Temin<sup>52</sup>, son virus de huésped animal con ARN como material genético en la partícula vírica que se transcribe a ADN cuando penetra en la célula.

Su característica fundamental es la replicación a través de la transcripción inversa de su ARN a ADN. Esta propiedad ha sido utilizada tanto en biotecnología como en biología molecular, para la producción de proteínas y clonación de otras de interés médico.

#### III.A.1.-CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS RETROVIRUS

Componen una amplia familia de agentes infecciosos, agrupados bajo la denominación de *retroviridae*: común estructura del virión y una forma similar de replicación<sup>53</sup>.

Estos pueden producir un amplio abanico de enfermedades, desde neoplasias y SIDA hasta infecciones asintomáticas.

Las características biológicas más representativas son<sup>54</sup>:

- a.-Estructura, organización genética y ciclo de replicación comunes, pero con una amplia gama de cepas víricas con una virulencia y efectos patogénicos muy diferentes.
- b.-Gran variedad de interacciones entre el virus y el huésped, que van desde infecciones absolutamente benignas, como en el caso de los virus endógenos, a infecciones exógenas de moderada morbilidad o de consecuencias fatales, como ocurre en la infección humana por VIH y los virus oncogénicos rápidos.
- c.-Habilidad para adquirir y alterar la estructura y funciones de secuencias genéticas del huésped y, como consecuencia, expresarse como oncogenes, el estudio de los cuales ha proporcionado un detallado conocimiento de los mecanismos moleculares de la carcinogénesis.
- d.-Capacidad de insertarse en la línea germinal del huésped, comportándose como elementos trasladables, con las consecuencias genéticas subsiguientes que han constituido una fuerza importante en la evolución de los vertebrados.
- e.-Posibilidad de producir ciertas alteraciones genéticas, tales como la activación o inactivación de genes específicos, cerca de los sitios de integración del provirus.
- f.-Capacidad para alterar rápidamente su genoma por mutación y recombinación, en respuesta a condiciones ambientales cambiantes.
- g.-Utilidad como vectores de genes extraños insertados en el laboratorio y para transportar y expresar esos genes de forma predecible a una amplia variedad de células y organismos.

### IIIA.2.-RETROVIRUS HUMANOS

El conocimiento de que una gran parte de los sarcomas y leucemias en animales estaban producidos por virus, estimuló su búsqueda en tumores humanos.

El descubrimiento de la transcriptasa inversa llevó en 1980 al aislamiento del primer retrovirus humano, el virus linfotrópico de las células T (HTLV- I), en pacientes afectados de una rara variedad de leucemia<sup>3</sup>.

En 1982 se aisló otro virus similar al HTLV-I a partir de pacientes con una variedad de leucemia de células peludas, se le denominó HTLV-II<sup>55</sup>. En 1983 el grupo de *Montagnier y Barré-Sinoussi*<sup>4</sup> aislaron un retrovirus del ganglio de un enfermo con linfadenopatía persistente generalizada y prácticas de riesgo, al que denominaron virus asociado a la linfadenopatía (LAV). Al año siguiente *Gallo, Popovic y colaboradores*<sup>5</sup> describieron otro retrovirus al que denominaron Virus linfotrópico humano de células T (HTLV-III). Poco tiempo después se demostró que se trataba del mismo virus. Así, se llegó a un acuerdo internacional denominándole virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

En 1986 *Clavel y colaboradores*<sup>56</sup> describieron un virus similar en africanos con SIDA pero seronegativos, denominado VIH-2. Localizado preferentemente en África Occidental, difería del VIH-1 en que causaba una enfermedad menos agresiva y no parecía transmitirse de madre a hijo. Posteriormente también se han encontrado diferencias genéticas. El genoma del VIH-2 es solamente el 40-50% similar al VIH-1, mientras que es homólogo en el 75% al virus de inmunodeficiencia del simio (SIV).

En 1987 se describió otro retrovirus, el HTLV-V, en asociación con un subgrupo de linfomas cutáneos de células T. Se desconoce todavía la confirmación de este aislamiento y la epidemiología de este retrovirus<sup>57</sup>.

### IIIB.-ESTRUCTURA DEL VIH

El virión es una partícula esférica de 80 a 110 nanómetros, constituida por tres capas concéntricas: una interna que contiene un nucleoide en forma de cono truncado con dos moléculas de ARN, la nucleoproteína y varias enzimas; una capa intermedia formada por la nucleocápside icosaédrica; y una tercera capa exterior o envoltura, en la que se encuentran insertadas las glucoproteínas víricas, a modo de 72 proyecciones externas constituidas por trímeros de Gp 120, lo que supone la existencia de 216 moléculas de Gp 120 por virión<sup>58,59</sup>. Esta estructura puede observarse en la figura número 2.

En la envoltura existen, además, gran concentración de proteínas celulares íntimamente asociadas:  $\beta$ -2 microglobulina y cadenas alfa y beta de antígenos HLA DR, aproximadamente unas 375 a 600 moléculas, que significan un 20% de las 2500 a 3000 moléculas de *gag*, y una concentración mucho mayor que la de Gp 120. Esta gran riqueza de proteínas celulares va a condicionar diferentes aspectos de la patogenia de la enfermedad aún no bien conocidos y de gran trascendencia en la fabricación de la vacuna<sup>58,59</sup>.

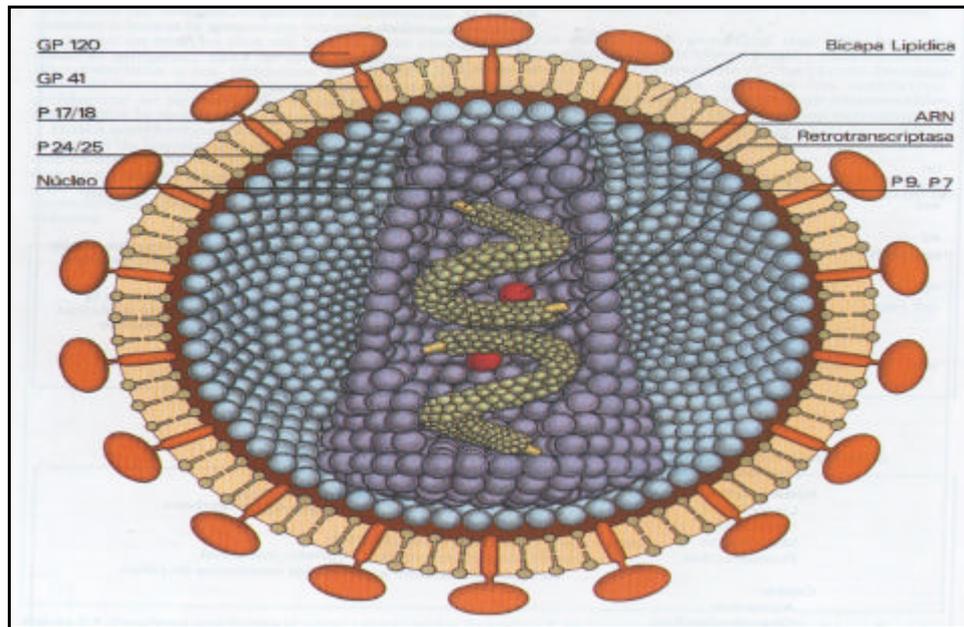


Figura 2.-Estructura del VIH.

### IIIB.1.-EL ÁCIDO NUCLEICO

Es un ARN monocatenario y diploide, como cadenas idénticas, cada una de 9.8 kb; con distintos genes que expresan a diferentes proteínas<sup>59</sup>. Los tres genes principales, comunes a todos los retrovirus, son los denominados *gag*, *pol* y *env*, que expresan las proteínas correspondientes a los antígenos internos “de grupo”; las enzimas (polimerasas) y la envoltura.

El VIH-1 posee 7 enzimas reguladores de la latencia o expresión del material genético vírico integrado (provirus) en los cromosomas celulares. Dos van a ser imprescindibles para la replicación del virus: *tat* y *rev*. El *tat* actúa como transactivador, aumentando la producción de ARN mensajero. Mientras que *rev* participa en el procesamiento de estos ARN mensajeros y facilita su transporte al citoplasma. De este modo, ambas moléculas regulan la expresión de las proteínas víricas<sup>59</sup>.

Los otros cinco genes reguladores son: el *vpr*, transactivador débil, que contribuiría a acelerar la replicación; el *vif* que está asociado a la infectividad; el *vpu* que facilita la salida de los viriones de la célula; el *nef*, inicialmente considerado como un regulador negativo, que actualmente se ha implicado en la patogenicidad; y, por último el *vpt*, cuya función es desconocida<sup>59,60</sup>. En la figura 3 recoge las interacciones entre los genes reguladores y estructurales del VIH.

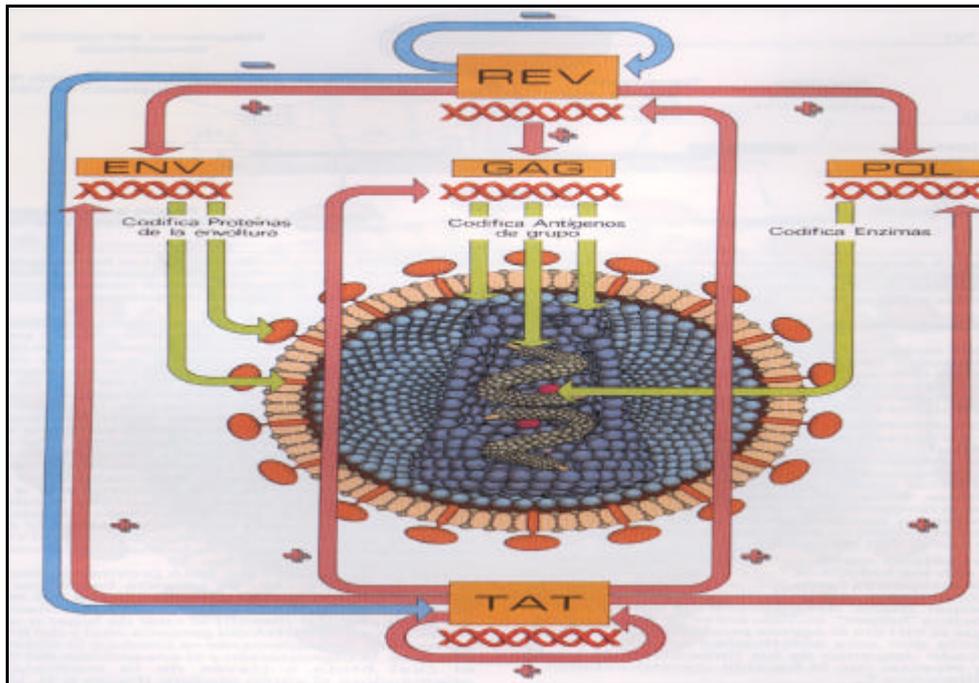


Figura 3.- Interacciones entre los genes reguladores y estructurales del VIH.

## IIIB.2.-PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

Las proteínas estructurales constituyen el esqueleto de la partícula. *Coffin* analiza cada una de ellas<sup>53</sup>. En la tabla 3 están recogidas cada una de ellas, sus características y su función.

### IIIB.2.1.) Proteínas *GAG*

Constituye la mayor parte de la estructura de la cápside, con aproximadamente unas 2500 a 3000 moléculas por virión. Además, participan en la síntesis del ADN y en la integración del mismo en los primeros momentos de la infección por VIH. En los momentos finales, las proteínas *gag* contribuyen al ensamblaje de la partícula vírica y a su salida de la célula (*exvaginación o budding*).

El gen *gag* expresa una proteína precursora (p55), en la que se pueden localizar las proteínas que van a contribuir a la formación del virión. La proteína matriz (MA, p17), a partir de la asociación proteína-membrana celular va a producir la exvaginación, con una modificación de la proteína que se consigue por la adición de un grupo de ácido mirístico en su grupo terminal NH<sub>2</sub>, de ahí la denominación de proteína miristilada. La proteína de la cápside (CA, p24) se asocia a otras proteínas para formar el nucleoide. Las dos proteínas de la nucleocápside (NC), son p15, precursor de p9, proteína unida al ácido nucleico, y p6, proteína rica en prolina, que ayuda a la maduración.

La matriz tapiza la superficie interna de la envoltura, y va a condicionar el que el ensamblaje se verifique de forma intracitoplasmática (partículas A) o en la membrana celular.

La proteína de la cápside forma la concha del nucleoide, elemento protector y antígeno mayoritario, clave para los inmunoensayos diagnósticos. Todas estas proteínas están en íntima relación con el ARN. Son proteínas básicas con una o más estructuras del tipo “dedo de zinc”. Participan en el empaquetamiento del ARN de forma correcta. Pueden llegar a formar cadenas ARN-ARN, moléculas necesarias para la dimerización del genoma y la asociación del genoma cebador.

### IIIB.2.2.) Proteínas *POL*

Se expresan a través del precursor *gag-pro-pol*. La proteasa (PR, p15) con función proteolítica, da origen a las proteínas definitivas de *gag* y *pol* durante la maduración de los virus. La función de las proteínas *pol* es la síntesis del ADN vírico y su integración en el genoma celular. Comprende dos enzimas: la RTI (p63/p55) y la integrasa (IN) (p11)<sup>59</sup>. La transcriptasa inversa es capaz de desarrollar dos funciones, la de polimerasa y la de endonucleolítica de ribonucleasa H (RN) (p13), y conduce a la degradación del molde y el cebador durante la síntesis. La integrasa propicia la integración del genoma vírico en el celular: prepara los extremos terminales 3' del ADN vírico, rompe el ADN celular y, finalmente, une el ADN provírico al cromosoma.

### IIIB.2.3.) Proteínas *ENV*

Se originan a partir de un precursor glicosilado, Gp160 en caso del VIH-1 y Gp 300 en caso del VIH-2.

Van a originar dos proteínas: la envoltura de superficie (SU), Gp 120, y la envoltura de transmembrana (TM), Gp 41<sup>59,61</sup>. En el caso del VIH-2 estas proteínas se denominan Gp 125 y Gp 36, respectivamente. Estas dos proteínas se mantienen unidas mediante puentes disulfuro y asociaciones no covalentes y se procesan a través de enzimas celulares.

Su función es la unión y penetración en la célula diana, por lo cual se consideran antígenos de entrada. No intervienen en el ensamblaje del virión ni los mecanismos postpenetración.

La proteína de superficie está siempre glicosilada en proporciones variables. Esto da la diferencia en el peso molecular en los distintos grupos de retrovirus. Contiene los sitios de interacción con los receptores celulares y los determinantes principales de neutralización por anticuerpos.

La proteína transmembrana, unida a la de superficie a la que fija en la envoltura del virión, es responsable de la fusión de la envoltura del virus a la superficie de la célula, mediante una región hidrofóbica amino terminal.

<b>PROTEÍNAS ESTRUCTURALES</b>		
<b>Genes</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Características y/o funciones</b>
<i>Gag</i>	p55. Proteína precursora de p17 p24 p15. Precursora de p9 p6	<b>Antígenos de grupos internos</b> Proteína miristilada de la matriz (MA) Proteína de la cápside (CA) <b>Proteína de la nucleocápside (NC)</b> Proteína unida al ácido nucleico Proteína rica en prolina; ayuda a la maduración del virus
<i>Pol</i>	p90. Proteína precursora de p15 p13 p63p55 p11	<b>Enzimas</b> Proteasa . Proceso postraslación de proteína ARNsa H (RN) <b>Transcriptasa inversa (RTI)</b> Integrasa, integración del cADN viral (IN)
<i>Env</i>	Gp160. Proteína precursora de Gp120 Gp41 Gp300. Proteína precursora de Gp125 Gp36	<b>Proteínas de la envoltura</b> Proteína de envoltura, superficie (SU) Proteína de envoltura, transmembrana (TM) <b>Proteína de envoltura</b> Proteína de envoltura, superficie (SU) Proteína de envoltura, transmembrana (TM)

**Tabla 3.-**Proteínas estructurales: características y funciones.

### IIIB.3.-PROTEÍNAS REGULADORAS

Entre las actividades que desempeñan cada una de ellas tenemos<sup>59</sup> :

- El Tat* (tat III) (p14) es un transactivador de todas las proteínas.
- El Rev* (art, trs) (p19) es un regulador de la expresión de las proteínas virales (rotura y transporte de ARNm precursores) e interviene en el transporte selectivo de ARNm al citoplasma.
- El Nef* (F, 3 crt B) (p27) pleiotrópica, incluyendo supresión viral; parece jugar un papel en la patogenicidad. Definido como regulador viral negativo, determina la expresión viral en ciertas circunstancias.
- Vit* (Q, sor A) (p23) proteína asociada a la infectividad del virión. Se necesita para la infectividad de los viriones extracelulares.
- Vpr* (rap, R) (p18) situada entre el *vit* y el *tat*. Acelerador del ciclo de replicación. Actúa en trans, aumentando la tasa de producción de proteínas.
- Tev* (Vpt o Tnv) (p26) activador de *tat* y *rev*. La proteína se codifica por fragmentos de tres genes diferentes *tat*, *env* y *rev*.
- Vpu* (out) (p15) proteína de 113 aminoácidos, sólo en VIH-2 y SIV. Ayuda en la infectividad puesto que parece facilitar el proceso de la envoltura y el brote viral. El VIH-2 carece de una región *vpu*, pero contiene una fórmula de puerta de lectura denominada *vpx* (*viral protein X*), el cual parece ser necesario para la replicación viral.

Las principales características y funciones de las proteínas reguladoras quedan recogidas en la tabla 4.

<b>PROTEÍNAS REGULADORAS</b>		
<b>Genes</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Características y/o funciones</b>
<i>Tat</i> (tat III)	p14	Transactivador de las proteínas
<i>Rev</i> (art, trs)	p19	Regulador de la expresión de las proteínas virales (rotura y transporte de ARNm precursores) Transporte selectivo de ARNm en el citoplasma
<i>Nef</i> (F.3, crtB)	p27	Pleiotrópica, incluyendo supresión viral; parece representar papel en la patogenicidad
<i>Vit</i> (Q, sor A)	p23	Proteína asociada a la infecciosidad del virión, se necesita para la infecciosidad de los viriones extracelulares
<i>Vpr</i> (rap, R)	p18	Situada entre <i>vit</i> y <i>tat</i> . Acelerador de la replicación. Actúa en trans, aumentando la tasa de producción de proteínas
<i>Tev</i> (Vpt, Tnv)	p26	Activador de <i>tat</i> y <i>rev</i> . La proteína se codifica por fragmentos de tres genes diferentes <i>tat</i> , <i>env</i> y <i>rev</i>
<i>Vpu</i> (out)	p15	Proteína de 113 aminoácidos; sólo en VIH-2 y SIV. Ayuda en la infectividad

**Tabla 4.-**Proteínas reguladoras: características y funciones.

### IIIC.-REPLICACIÓN DEL VIH

El antígeno de entrada es la Gp 120. Al interaccionar con la célula, pone en marcha el mecanismo de penetración del ácido nucleico. La Gp 120 se une a un receptor específico, la molécula CD4 de los linfocitos T cooperadores. La unión con esta molécula es específica y altamente eficiente. La afinidad de la proteína Gp 120 es mayor que la que tiene el CD4 por sus ligandos, el tipo II de histocompatibilidad (MHC). *In vitro* las células VIH pueden ser bloqueadas por incubación con células con anticuerpos para el CD4. El epítoto T4A es crítico en la unión<sup>62</sup>.

Así, el CD4 actúa como receptor primario para el VIH dirigiendo la infección hacia las células que expresan esta proteína: monocitos, macrófagos, etc<sup>62</sup>.

Se han identificado otras células que también pueden ser infectadas por el VIH entre las que se incluyen los fibroblastos, las células dendríticas y de la glía, células cervicales, hepatocitos<sup>63,64,65,66,67</sup>.

Por otra parte, la penetración del VIH-1 en la célula puede depender de mecanismos indirectos a través de los receptores Fc de las inmunoglobulinas y los receptores del complemento, que fijan complejos VIH-anticuerpos específicos<sup>68</sup>.

Una vez en el organismo se distribuye afectando diferentes células. No obstante, sólo alcanza concentración suficiente para transmitirse a partir de sangre, semen, exudados vaginales y leche materna, con diferente eficacia para cada uno de estos fluidos biológicos.

Algunas células, como los linfocitos T CD8, no expresan el receptor CD4 y, sin embargo, en determinadas circunstancias pueden adquirir la susceptibilidad a la infección por VIH-1. Así ocurre también en la infección por el virus herpes tipo 6 (HHV-6) que induce la expresión de moléculas CD4 en esas células<sup>69</sup>. Por otro lado, el CMV es capaz de inducir la expresión de receptores de inmunoglobulinas en la superficie de fibroblastos, transformando a estas células en susceptibles a la infección por VIH-1<sup>70</sup>.

Al ponerse en contacto con la célula diana el virus forma una especie de zona de adhesión con la  $\beta$ -2 microglobulina y los antígenos del sistema HLA, estableciéndose una interacción entre la Gp120 y el CD4. La zona de unión de la Gp 120 está compuesta por cuatro fragmentos discontinuos que se pliegan para establecer la zona de contacto “ bolsillo de unión”. Posteriormente se producen cambios en la Gp 120, dejando accesible a la rotura proteolítica una región conocida como V3<sup>71</sup>. A continuación tiene lugar la fusión de parte de la Gp 4 con un factor “F” (de fusión) presente en la membrana celular. Como resultado final tenemos la penetración de la nucleocápside vírica en la célula.

Después de la internalización suceden una serie de procesos: la transcriptasa inversa transcribe el ARN viral a ADN, el cual queda inicialmente como ADN episomal en el citoplasma. Este período se conoce por *latencia de preintegración*. La activación celular producida por diferentes estímulos lleva consigo el paso del ADN vírico al núcleo y la integración en los cromosomas celulares. El genoma vírico queda así en forma quiescente como un provirus. Es en este momento cuando se inicia el *período de latencia de postintegración*, de equilibrio dinámico.

Con respecto a la evolución de la enfermedad, al principio la mayor parte se encontrará en forma *preintegración*, y conforme va avanzando la enfermedad pasará a las formas *postintegración*.

Se pueden distinguir dos fases en la replicación:

\*En la primera fase predomina la expresión de los genes reguladores *tat*, *nef* y *rev*.

\*En una segunda fase predomina la de los genes estructurales *gag*, *pol* y *env*, dando lugar a la producción de partículas víricas. Esta tiene lugar tras la unión de las proteínas al ARN vírico y la posterior incorporación de la envoltura en la membrana celular, en la que se han insertado previamente las glucoproteínas expresadas por el virus.

Durante la maduración ciertos precursores de la nucleocápside y enzimas son degradados por acción de la proteasa vírica, circunstancia que ofrece infecciosidad al virus. De esta manera la transcriptasa inversa sería la enzima de entrada, mientras que la proteasa sería la enzima de salida. En la figura 4 se representa el ciclo vital del VIH en los linfocitos CD4.

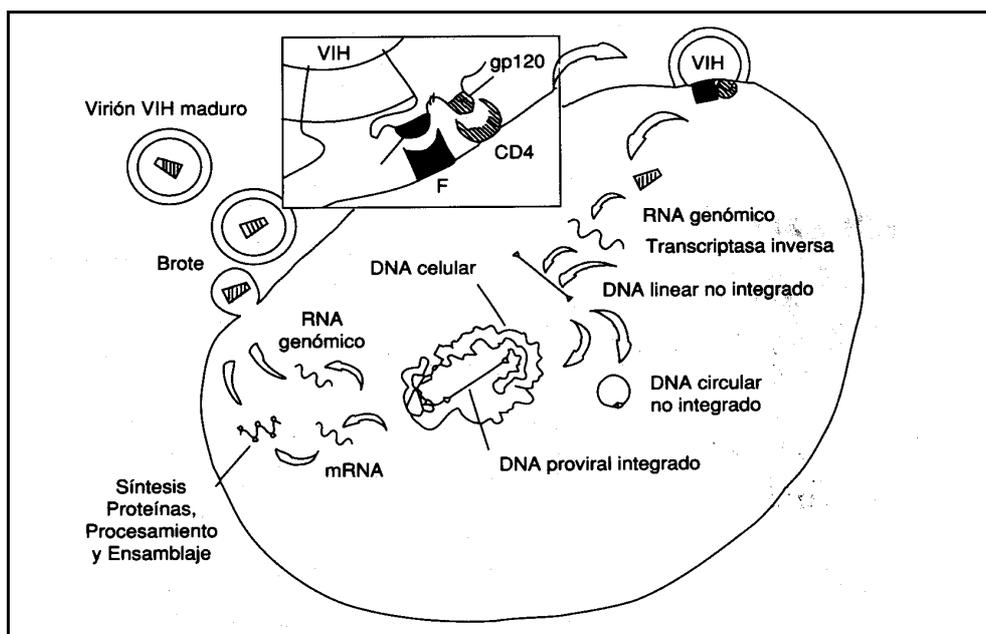


Figura 4.-Diagrama del ciclo vital del VIH en los linfocitos CD4.

### IIID.-CÉLULAS OBJETIVO DE LA INFECCIÓN

Al ser el receptor primario del VIH la molécula CD4, cualquier célula que exprese esta proteína llega a ser un objetivo para la infección del virus. En este sentido, el linfocito T CD4 es extraordinariamente susceptible a la infección y el tipo celular predominante objetivo del VIH, pero células de la línea monocito/macrófago (M/M) también expresan el CD4 y pueden ser infectadas<sup>62</sup>. El curso de la infección en estos dos tipos celulares es diferente y probablemente representan un papel distinto en la patogénesis de la enfermedad. El VIH ha sido también detectado en una amplia variedad de tipos celulares que expresan cantidades variables de CD4, o sin la expresión del CD4<sup>63,64,65,66,67</sup>. Aunque la infección simultánea de estos tipos celulares ha sido llevada a cabo *in vitro*, esto no es necesariamente un reflejo de lo que realmente ocurre *in vivo*.

Se ha demostrado que existen cepas víricas con diferente tropismo<sup>72</sup>:

1. Los que infectan células T CD4 de sangre periférica y macrófagos, pero que son incapaces de infectar líneas celulares transformadas monocíticas y linfoides.
2. Aquellas cepas capaces de infectar líneas celulares transformadas, pero no macrófagos.

También, puede llegar a infectar células B, especialmente si están infectadas por el virus Epstein-Barr.

En cuanto a la capacidad de unión con la célula, *Wolfs y colaboradores*<sup>73</sup>, han resumido que el bucle V3 contribuye a mantener el contacto entre las dos

membranas (vímica y celular) después de la unión de la Gp 120 y el receptor CD4. Por otro lado, la fusión de la envoltura vírica y la membrana celular debe ir precedida de una activación proteolítica, que viene proporcionada por varios sitios del V3. De ahí que el tropismo venga relacionado con la existencia de *proteasas* celulares específicas.

### III.E.-PATOGENICIDAD

Durante las etapas iniciales de la enfermedad, fase asintomática, se aíslan con más frecuencia cepas NSI. Por el contrario, en fases más avanzadas, cuando la enfermedad ha progresado, los virus son capaces de inducir la formación de sincitios en células mononucleares de sangre periférica (cepas SI)<sup>27,74</sup>.

La región V3 de la Gp 120 corresponde a la zona que determina la capacidad sincitial, que conlleva el cambio de no sincitial a sincitial<sup>75</sup>.

Otro factor que determina la patogenicidad es la cinética (rápida o lenta) o el grado (alto o bajo) de replicación en el cultivo. Según *Levy*<sup>76</sup>, depende de la afinidad del virus al CD4, fusión virus-célula, eficiencia de entrada de la nucleocápside vírica en la célula y la influencia del medio intracelular. Además de ciertos factores externos, como las citocinas, que actuando sobre elementos intracelulares influyen en la expresión de ciertas cepas.

Algunos estudios apuntaban a ciertos factores, como los subtipos de HLA, que podían estar correlacionados con el riesgo de contraer el virus, con la progresión de enfermedad<sup>21,77</sup> y con el riesgo de transmisión<sup>78</sup>. Trabajos de *Plummer*<sup>79</sup> han demostrado que existe menor riesgo de contraer la enfermedad entre personal con ciertos subtipos de HLA: los alelos de histocompatibilidad Aw28 y Bw70s (MHC-I). En contraposición, el alelo Aw19 está relacionado con aumento de riesgo de seroconversión.

La pérdida de la capacidad de las células T de reconocer los antígenos, tras la estimulación con distintos antígenos, se asociaba a una disminución más rápida del número de CD4 y mayor incidencia de infecciones bacterianas oportunistas<sup>80</sup>.

Los CD4-Th1 son productores de: interferón gamma, interleukinas (IL) 2 y 12 y de factor de necrosis tumoral beta (TNF-β). Además, son mediadores de la inflamación y activan los macrófagos selectivamente, convirtiéndose en promotores de la respuesta mediada por células. Los CD4-Th2 serían productores de la IL 4, 5, 6 y 10, citocinas que influyen en el desarrollo de las células B y pueden dar lugar a un aumento de la producción de anticuerpos. El paso de un patrón Th1 a Th2 con disminución de la producción de IL 2 y aumento de la IL 4 es un marcador pronóstico de la enfermedad, según refiere *Clerici*<sup>81</sup>. Posiblemente representa un papel importante la IL 10 que regula negativamente a la IL 2, pues en etapas avanzadas de la enfermedad, donde también decae la cantidad de producción de IL 4, no se ve aumentada la IL 2. Así, el cambio de respuesta de CD4-Th1 a CD4-Th2 produce mayor susceptibilidad a la infección por VIH o progresión del período asintomático hacia otros períodos de la enfermedad. Puede ser necesario, según *Clerici y Shearer*, la actividad de un cofactor que no necesariamente tiene que ser antigénico<sup>82</sup>.

#### IV.-ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

Desde la identificación y caracterización del VIH como causante del SIDA al principio de los ochenta, la destrucción de los linfocitos T CD4 originada por la misma, representa un giro donde la disminución de la función inmune está asociada a la progresión de la enfermedad.

En la figura 5 se representa los diferentes mecanismos patogénicos de la infección por el VIH.

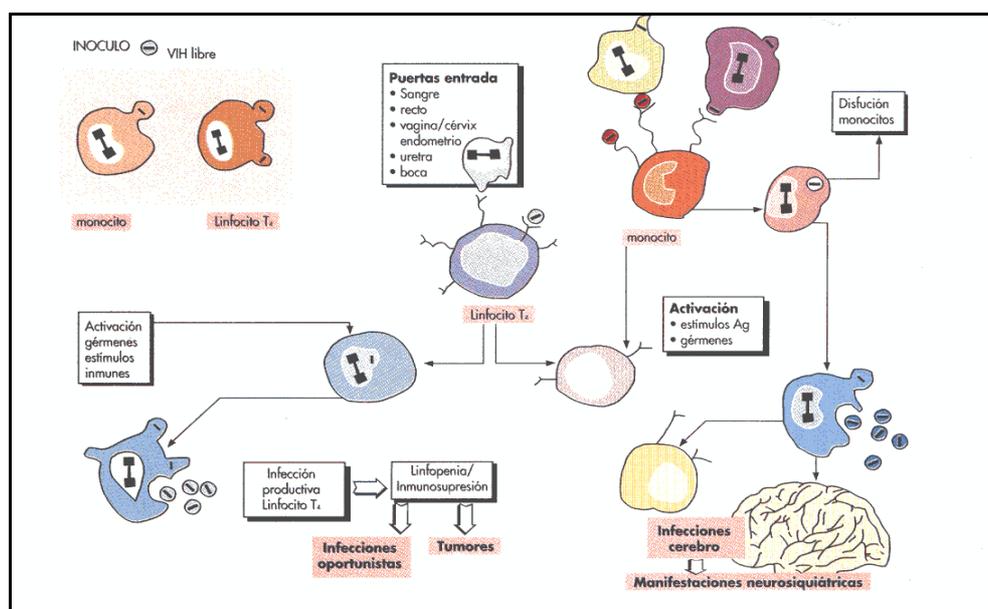


Figura 5.-Mecanismos patogénicos de la infección por el VIH.

#### IVA.-MOLÉCULA CD4 Y OTROS RECEPTORES

La molécula CD4 (una glicoproteína), supuesto receptor de la superficie celular para el VIH, se encuentra primariamente en los linfocitos T y algunos monocitos y macrófagos. Esta molécula representa un papel crucial en la entrada viral del VIH. El CD4 es reconocido por la envuelta glicoproteica del VIH como sistema de unión y entrada a la célula huésped para iniciar la replicación del virus<sup>62</sup>.

Otras células, como los macrófagos, expresan el CD4 en la superficie celular favoreciendo el inicio de la infección por VIH. Estas células son, sin embargo, más resistentes a los efectos citopáticos del virus y podrían tener un papel importante en la persistencia de la infección, actuando como reserva para el virus. Recientemente, moléculas adicionales en la superficie celular que normalmente funcionan como receptores quimiocinéticos, han sido identificados como correceptores necesarios para el proceso de entrada del VIH dentro de las células. Estos correceptores tienen especificidad para diferentes variantes virales. El

polimorfismo genético en la envuelta glicoproteica del VIH determina qué correceptor va a usarse y, como consecuencia, el tipo de célula huésped que será preferentemente infectada. Es el llamado tropismo viral el cual explica qué variantes virales preferentemente infectan las células T y los macrófagos.

Las variantes del VIH preparadas para inducir la formación de sincitios (un proceso de fusión celular) dependen de la molécula CXCR4 para la entrada viral, mientras que las variantes que no inducen sincitios usan el correceptor CCR5<sup>83</sup>.

Preferentemente, las células CD4 memoria son las que primariamente se afectan por el VIH, ocasionando de forma precoz la disminución de la respuesta inmune de las células T memoria<sup>84</sup>.

Tras la infección primaria, la respuesta inmune antiviral aparece, los individuos entran en un estado crónico asintomático o mínimamente sintomático que dura de 7 a 11 años. Desdichadamente, los altos niveles de la continua replicación viral en los nódulos linfáticos durante este período sugieren que la enfermedad por VIH está claramente activa y progresa a pesar de las apariencias clínicas<sup>85</sup>. Generalmente, la CV durante esta fase es muy baja. Solamente una pequeña fracción de células CD4 de sangre periférica está afecta durante este período. El nivel de CV es el mejor predictor de fallo inmune y progresión de la enfermedad, pero seguido del número de linfocitos CD4, niveles de neopterina y  $\beta$ -2 microglobulina<sup>86</sup>.

El incremento de la CV en el plasma y los niveles elevados del ADN y ARN celular en sangre periférica se correlacionan con la disminución de células T CD4 periféricas. La mayoría de los estudios se han dirigido a los linfocitos de sangre periférica, pero estas células representan solamente un 2% sobre el total de la población de linfocitos. Los órganos linfoides contienen la mayoría de las células T CD4 y, así, con el progreso de la enfermedad por VIH, la arquitectura normal de los nódulos linfoides se pierde<sup>85</sup>. La disminución de los CD4 es indicadora de fallo de la respuesta inmune y anunciará la progresión de la enfermedad. Por otro lado, el nivel de ARN de VIH en plasma es el predictor más poderoso de progresión a SIDA y muerte, en comparación con la determinación del total de las células T CD4. La combinación de ambos proveerá el método más seguro para determinar el pronóstico del VIH<sup>86</sup>.

Por otro lado, estudios *in vitro*, han clasificado las células T CD4 en Th0, Th1 y Th2. Las células CD4-Th1 están asociadas con la producción de citocinas que es lo que caracteriza la respuesta inmune mediada por células, tales como el IF $\gamma$  y la IL 2. Las células CD8-Th2 están asociadas con las citocinas que estimulan la producción de anticuerpos por las células B, tales como la IL-4, IL-5 y la IL-10. La respuesta Th1 que estimula la inmunidad celular podría ser preferente en la infección por el VIH, y algunos investigadores han propuesto que existe un desplazamiento desde la respuesta Th1 a Th2 con la progresión de la enfermedad VIH a SIDA, sin embargo, otros no encuentran esta transición<sup>82</sup>.

#### IVB.-LINFOCITOS CD8

Las células T CD8 también juegan un papel en la respuesta inmune de la infección por VIH. Se ha encontrado una asociación entre los linfocitos T CD8 citotóxicos específicos en el VIH-1 y el control de la viremia inicial en la infección primaria por VIH, las células CD8 podrían ayudar al control por medio de una acción no citolítica<sup>87,88</sup> que podría estar mediada por factores supresores del VIH-1: RANTES, MIP-1- alfa y MIP-1-beta. Estas quimioquinas han sido identificadas como el factor supresor más importante producido por las células CD8 *in vitro*<sup>89</sup>.

La limitación de la expansión de los linfocitos CD8 puede estar relacionada con una respuesta inmune menos efectiva en la infección primaria por VIH. Las células T CD8 citolíticas podrían ser importantes a largo plazo en la supervivencia<sup>90</sup>.

*Brinchmann* y colaboradores en un estudio realizado sugieren que posiblemente las células T CD8 activadas sean capaces de secretar, en algunos casos, una sustancia capaz de inhibir la replicación del VIH-1<sup>91</sup>.

#### IVC.-MONOCITOS Y MACRÓFAGOS

La función de los monocitos es la fagocitosis, la destrucción celular y la quimiotaxis y ayuda de la respuesta de las células T y B frente a los antígenos<sup>92</sup>. Los cambios numéricos o funcionales en las células monocitos/macrófagos durante la infección por VIH no han sido totalmente definidos. La mayoría de los estudios muestran un número normal de monocitos en sangre periférica, sin embargo, los macrófagos maduros de los tejidos linfáticos y extralinfáticos son las células más activas en la presentación y proceso de los antígenos. Pero este mecanismo puede quedar alterado conforme avanza la enfermedad.

#### IVD.-LA ACTIVIDAD CELULAR DE LA *NATURAL KILLER*

Las células *Natural Killer* (NK) son una especie de leucocitos distintos de las células T y B. Estas células son capaces de mediar espontáneamente citolisis no mediada por el sistema MHC restrictivo de un amplio rango de células diana sin sensibilización previa. La citolisis de las NK se relaciona con la protección inicial frente a una amplia variedad de infecciones virales. El número de células NK podría no estar siempre disminuido en individuos VIH, aunque sí determinadas subpoblaciones<sup>93</sup>.

La actividad citolítica de las NK es menor si se compara con personas no afectas, sin tener en cuenta el estadio de la infección<sup>94,95</sup>. Recientemente, se ha demostrado *in vitro* que el aumento de la lisis de las células diana Gp120/Gp41 por las células NK y los monocitos está gravemente comprometido en los individuos VIH<sup>95</sup>.

La mayor eficiencia de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) viene dada por la combinación de la especificidad del anticuerpo inducido por el VIH, con el potencial citolítico de las células efectoras marcadas por las moléculas del receptor Fc. Las células *Natural-Killer*, los macrófagos y en algunos se extiende a los leucocitos polimorfonucleares, son las células primarias capaces de este tipo de citotoxicidad. La actividad ADCC es dependiente de ambos componentes inmunes, el humoral y el celular, y se reduce en individuos infectados, particularmente cuando la enfermedad progresa<sup>94</sup>.

### IVE.-INMUNIDAD HUMORAL

Aunque los linfocitos B no son infectados directamente por el VIH, en los individuos que son infectados por el virus ocurren un amplio rango de alteraciones de la funcionalidad de las células B.

En el primer año de la seroconversión disminuye la producción de inmunoglobulinas<sup>96</sup>.

También, el número de células B se ha encontrado disminuido en individuos VIH. Este descenso no está asociado con el de las células CD8 o el de las células T activadas, lo que sugiere que se produce específicamente. La disminución en el número de las células B está presente desde los estadios más tempranos de la infección por VIH, y llega a ser más pronunciada en los más avanzados<sup>97</sup>.

El mecanismo por el cual la función celular se deteriora no está claro, pero probablemente está relacionado no solamente con la alteración de la función de las células T, sino también por el efecto directo del virus sobre las células B.

### IVF.-EFECTOS DE LA GESTACIÓN EN LA ENFERMEDAD VIH

La investigación de las alteraciones de la inmunidad en el embarazo es anterior a la epidemia por el VIH. El misterio de cómo un feto extraño antigénicamente escapa de la inmunidad materna ha dirigido a los investigadores a estudiar las alteraciones de la inmunidad en el embarazo antes de que la inmunología nos ofreciera armas para contestar realmente a estas preguntas. Existe un concepto erróneo sobre el embarazo como un estado de inmunodeficiencia. Esta presunción surge de la idea obsoleta de que se requiere algún grado de inmunodeficiencia en la madre para proteger al aloinjerto fetal de la reacción inmune. Los estudios *in vitro* de los diferentes componentes del sistema inmune han dejado resultados diversos.

Así, según el trabajo que tengamos en cuenta, las células CD4 y CD8 pueden incrementar, disminuir o no variar<sup>98,99,100</sup>. Variaciones similares se han hallado en la respuesta proliferativa de los linfocitos, la actividad NK y la producción de inmunoglobulinas y citocinas.

La gran mayoría de las mujeres infectadas se encuentran en edad fértil, aunque su fertilidad no parece estar dañada, salvo en el estado avanzado de inmunodeficiencia grave. Grandes estudios de cohorte en mujeres VIH, en los

primeros años de la epidemia del SIDA, con niveles de CD4 normales, presentaban pequeñas progresiones de la enfermedad tras los 9 meses de gestación, en comparación con aquellas que no se embarazaban. Por el contrario, mujeres gravemente inmunocomprometidas y seguidas por un período de 9 meses podrían progresar de forma significativa sin tener en cuenta la gestación. Al principio, algunos trabajos clínicos sugirieron que existía una más rápida progresión del SIDA tras el parto. En un ensayo con 103 mujeres embarazadas VIH concluyen que el pronóstico de la infección podría verse negativamente influido por la gestación<sup>101</sup>. Los investigadores en este estudio señalan la posibilidad de la sobrestimación de la progresión debido a una tasa relativamente alta de pérdidas en el seguimiento. *Minkoff y colaboradores*<sup>102</sup> compararon gestantes VIH con un grupo control de gestantes no infectadas, registrándose más frecuentemente, y de forma significativa, infecciones graves en el grupo VIH con CD4 más bajos de 300 células/mm<sup>3</sup>, y no encontrándose diferencia entre las gestantes seronegativas y aquellas VIH con niveles de CD4 superiores a los 300 células/mm<sup>3</sup>.

Se desprende de los datos disponibles, que la mayoría de los estudios no tienen suficiente capacidad para mostrar definitivamente que no existen diferencias en la progresión de la enfermedad entre mujeres infectadas que conciben y llevan a término un embarazo con aquellas quienes no se embarazan o terminan precozmente con el mismo<sup>103,104,105,106</sup>.

Uno de los trabajos más largo y controlado sobre las células T en el embarazo fue el llevado a cabo en 1996 por *Burns y colaboradores*<sup>98</sup>. En él se compararon 192 mujeres VIH con 148 controles, seguidas hasta dos años después de la gestación. En las mujeres seronegativas el porcentaje de los CD4 incrementó entre el tercer trimestre y los doce meses postparto. Mientras, entre las mujeres infectadas los niveles de los CD4 disminuyeron de forma fija durante la gestación y el postparto. La media de este descenso fue del 1.57% entre el tercer trimestre de la gestación y los doce meses postparto (p: 0.02).

El porcentaje de los linfocitos CD8 está incrementado cerca del parto y disminuye hasta mantener unos niveles constantes entre los 2 y 6 meses postparto, tanto en grupos VIH como en las gestantes no afectas. El incremento durante o cerca del parto era sólo escasamente significativo, pero la disminución subsiguiente en ambos grupos era estadísticamente significativa<sup>98</sup>. La comparación del porcentaje linfocitario tiene mayor fiabilidad que la de los valores absolutos, pudiendo ser más seguros a la hora de detectar cambios reales, ya que es menos probable que varíen los porcentajes con la progresión de la gestación y tras el parto, de acuerdo con los cambios propios del volumen de sangre.

Datos publicados en 1991 en un estudio realizado prospectivamente entre gestantes seropositivas, mostraron una disminución progresiva en el porcentaje de los CD4, con una caída en la tasa CD4:CD8 desde el 30% hasta el 11% a lo largo del período de estudio<sup>107</sup>.

En otro trabajo prospectivo realizado en Kenia, que abarcaba la gestación, el parto y 6 semanas postparto, encontraron que el porcentaje de CD4 era más bajo en el postparto, tanto en las mujeres VIH positivas como en las negativas, sin que ocurriera igual para las cuentas absolutas de los CD4. Por el contrario, las cuentas

absolutas y porcentaje de los CD8 eran significativamente más altos en el postparto que durante el período prenatal<sup>108</sup>.

En esta misma línea, en otro estudio se controlaron a 229 mujeres procedentes de Malawi, durante el tercer trimestre y 128 mujeres en el postparto (VIH positivo y negativo), registrándose un incremento en el número absoluto de linfocitos CD4 y CD8 entre la fase final de la gestación y la fase precoz del postparto. Aunque, en los porcentajes de células CD4 y CD8 no se detectaron cambios<sup>109</sup>.

*Rich y colaboradores*<sup>110</sup> encontraron un fenotipo y una función celular T en mujeres VIH positivas y negativas gestantes durante la gestación y el postparto, con respecto a mujeres no gestantes sanas. Todas las mujeres no gestantes sanas, un 74% de las mujeres gestantes sanas y un 54% de embarazadas VIH respondieron a todos los estímulos en función de producción de IL 2 *in vitro*. Todas las gestantes sanas tienen una función normal entre los 2 y 6 meses postparto, comparadas con el 27% de las mujeres infectadas. En resumen, las gestantes VIH tienen niveles de linfocitos memoria aumentados, reducidos los niveles de linfocitos no afectos e incrementados los niveles de linfocitos activados (determinado por citometría). Estos datos sugieren que la función de las células CD4 y su fenotipo está alterado en la gestación y regresa a la línea basal durante el postparto en aquellas mujeres no infectadas, pero no ocurre así en las mujeres VIH.

#### IVG.-EFECTOS DEL VIH EN EL EMBARAZO

En un principio los datos obtenidos en mujeres embarazadas VIH referían que hasta un 70% presentaban complicaciones, las más comunes eran el aborto, la amenaza de parto pretérmino o las complicaciones infecciosas<sup>111,112</sup>. *Minkoff*, consecuentemente, registró entre un grupo de 91 mujeres VIH frente a 126 controles, que el primer grupo tenía mayor probabilidad de tener enfermedades de transmisión sexual y complicaciones médicas durante el embarazo. No se halló asociación entre el estado del VIH y el peso del recién nacido, la edad gestacional, la circunferencia craneal o el Apgar, cuando se controló el consumo de drogas y tabaco y la edad maternal<sup>113</sup>. Estos hallazgos están de acuerdo con otros estudios realizados en embarazadas VIH consumidoras de drogas<sup>114</sup>. La mayoría de los trabajos publicados, sin embargo, podrían ser objeto de trabas por el insuficiente número de casos para detectar diferencias significativas, particularmente si estratificamos por el número de los CD4 y el estado clínico de la enfermedad.

Por el contrario, en una muestra de 466 mujeres VIH en Zaire, se detectó un incremento de la tasa de nacimientos prematuros y bajo peso al nacimiento de los niños, así como un mayor porcentaje de mortalidad neonatal, cuando se comparó con otra muestra de 606 mujeres seronegativas<sup>115</sup>. Pero esta población del estudio incluyó un número significativamente elevado de mujeres con SIDA.

*Alger y colaboradores* controlaron a 101 mujeres VIH frente a 97 mujeres control con factores demográficos y de riesgo similares<sup>37</sup>. Las mujeres VIH tenían mayor probabilidad de tener condilomas y temperaturas más altas durante el parto,

pero no más complicaciones médicas anteparto. La mayoría de las mujeres estaban asintomáticas y permanecían así durante todo el embarazo. La media de CD4 en las gestantes VIH era de 500 células/mm<sup>3</sup> en el momento de la inclusión y 600/mm<sup>3</sup> en el parto. Además, estas gestantes tenían mayor probabilidad de recibir antibióticos durante el parto y menor posibilidad de tener una episiotomía. El resto de los resultados fueron similares a los obtenidos con las del grupo control. No encontrándose tampoco diferencias en los resultados neonatales.

Más recientemente, *Temmerman y colaboradores*<sup>116</sup> en un trabajo en el que se compararon 315 mujeres seropositivas y 311 mujeres seronegativas en Nairobi, seguidas durante la gestación y seis semanas después del parto, encontraron una asociación entre VIH, bajo peso al nacimiento y prematuridad, pero no encontraron asociación con pequeños para la edad gestacional. En este estudio se detectó una mayor tasa de partos pretérminos en mujeres con CD4 debajo del 30%, además de mayor riesgo de padecer úlceras genitales, serología de sífilis positiva y endometritis postparto. Otros autores confirman estos hallazgos. Aunque las mujeres seropositivas tienen mayores complicaciones durante la gestación, incluyendo enfermedades de transmisión sexual, bajo peso al nacimiento, prematuridad, infección intraparto y endometritis postparto, este efecto debería preferirse a aquellas gestantes gravemente inmunocomprometidas.

### V.- PLACENTA Y TRANSMISIÓN VERTICAL DEL VIH

La experiencia clínica sugiere que la posibilidad de que un niño se infecte depende de la CV y del estado de enfermedad de la madre<sup>117,118</sup>.

La infección primaria del VIH se asocia con el desencadenamiento de la viremia. El mayor riesgo de afectación fetal podría tener lugar cuando la madre, al mismo tiempo que queda gestante, adquiere la infección. La alta CV, la inmadurez del desarrollo de la inmunidad fetal y la ausencia de protección de las inmunoglobulinas maternas podrían hacer más propenso al feto frente al VIH. La infección intrauterina destruye el timo, principal fuente de producción de células CD4<sup>121</sup>. Ello ocasionaría una linfopenia que desencadenaría la muerte por una infección bacteriana común o una neumonía por *pneumocystis carinii* en la infancia precoz<sup>121,122</sup>.

Por otro lado, se ha encontrado actividad del linfocito T citolítico VIH específico en niños no infectados nacidos de madres afectas. El mecanismo de este fenómeno es desconocido<sup>119</sup>.

Durante la fase asintomática de la infección por VIH la mayor CV se encuentra en los ganglios linfáticos, el bazo y la médula ósea. En los episodios de viremia materna se expone a la placenta, y potencialmente al feto, al VIH. Infecciones intercurrentes bacterianas o víricas pueden estimular la producción del virus, así como la respuesta inmune. La placenta es la única resistencia frente al VIH, y podría ser capaz de proteger al feto del VIH incorporándolo dentro del ADN de la célula trofoblástica durante la fase virémica. La placenta podría ser infectada y el feto no.

La resistencia natural frente al VIH se encuentra también en un 5% de las personas infectadas, en quienes no progresa a largo plazo<sup>120</sup>. Excepto la placenta, la cual incluso estando afectada defiende al feto en la mayoría de las gestaciones, la historia natural de resistencia al VIH es rara en la especie humana. Las quimioquinas (MIP-1, MIP- $\beta$ , RANTES) y los correceptores (CKR-5 fusin) podrían modificar la historia natural del VIH en estos individuos<sup>26</sup>.

### VA.-ANATOMÍA PLACENTARIA APLICADA

La placenta humana es hemocorial. Las células del trofoblasto fetal que cubren el villi placentario están en directo contacto con la sangre materna. El trofoblasto deriva de la última capa del blastocisto que se desarrolla después de la fertilización. Las células del trofoblasto cubren una zona central fibrovascular que contiene capilares fetales, células dendríticas y macrófagos, llamados células de Hofbauer. Las células de Hofbauer expresan el HLA-DR, tienen receptores CD4 y Fc<sup>123</sup>, transfieren inmunoglobulina G materna al feto y suponen el 40% de las células estromales del villi, en el villi terminal. La expresión del HLA-DR en la célula de Hofbauer aumenta durante la gestación<sup>124</sup>. La configuración de las mismas varía con la densidad del estroma. Cuando existe menos edema, la célula de Hofbauer puede verse con dificultad en las vellosidades terciarias. La hiperplasia de las células de Hofbauer es más común en la placenta de una madre con SIDA, donde podrían tener forma de células gigantes sincitiales. Los macrófagos placentarios podrían producir citocinas tales como interferón, interleukinas, factor de necrosis tumoral y un factor supresor, el factor de transformación de crecimiento beta (TGF- $\beta$ )<sup>125</sup>.

La separación entre la sangre materna y fetal no es absoluta<sup>126</sup>. Esto es posible demostrarlo usando la técnica de *Kleihauer-Betke*. Al final hay una fusión entre la membrana basal del capilar fetal y la membrana basal del trofoblasto para formar una única membrana que mide solamente 3.7 micras. La corioangiomas de las vellosidades está asociada con la hipervascularización, la cual podría incrementar también la transmisión viral<sup>127</sup>.

Las células blancas de la madre pueden ser aspiradas por el feto en caso de corioamnionitis. Una rotura en la barrera placentaria podría servir como puerta de entrada para la infección. Igualmente pequeñas hemorragias retroplacentarias o el *abruptio* placentario podrían exponer de viriones maternos a la circulación fetal<sup>128</sup>.

El trofoblasto vellositario consiste en una única capa de células regenerativas de citotrofoblasto llamadas células de Langhans, cubiertas de otra capa de células no proliferativas de sincitio queratin-positivo que difunden dentro de las lagunas de sangre materna en el espacio intervilloso. El trofoblasto fetal ( $10^5$  células) entra en la circulación materna diariamente para mantener la tolerancia inmunológica frente al feto. El trofoblasto no expresa HLA tipo A, B ó C, tiene un patrón antigénico único, el HLA-G, el cual protege al trofoblasto de la lisis por las células Natural Killer derivadas de la decidua materna. Las vellosidades coriales

podrían cubrirse de fibrina, atrapando así a los linfocitos infectados maternos y facilitando la transferencia materno-fetal del virus <sup>129,130</sup>.

La interfase placentaria entre la madre y el feto filtra los constituyentes de la sangre y funciona como una poderosa barrera, modificando sus efectos para proteger al feto de las infecciones, la sobrecarga de volumen, el daño inmunológico y los teratógenos ambientales.

La placenta podría limpiar la sangre materna infectada por el VIH y prevenir la infección fetal. Un bloqueo similar se ha descrito en estudios con la hepatitis B y el citomegalovirus (CMV) <sup>131</sup>.

## VB.-ANATOMÍA-PATOLÓGICA PLACENTARIA Y VIH

El examen rutinario de la anatomía patológica placentaria no predice la posibilidad de transmisión materno-fetal (TMF) del VIH <sup>123</sup>.

Al principio de la epidemia se describió la proliferación del trofoblasto y de las células de Hofbauer en las vellosidades coriales. Posteriormente, otros cambios no específicos incluían la edematosidad en las vellosidades inmaduras <sup>132</sup>, haciendo al citotrofoblasto prominente, hiperplasia de la célula X (vellosidad extravellositaria), hiperplasia de la célula de Hofbauer, con ocasionales células gigantes <sup>133,134</sup>, incremento de la fibrina perivellositaria e incremento de la vascularización vellositaria denominada corioangiomas. Estas alteraciones morfológicas podrían añadir peso a la placenta <sup>123,135</sup>.

Las células placentarias son tejido diana para el VIH, como hemos visto usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), técnicas de hibridación *in situ* (HIS) y técnicas de inmunohistoquímica, en las células de Hofbauer y el sincitiotrofoblasto <sup>123,136,137,138</sup>, la puerta de entrada sería el receptor CD4 <sup>123</sup>. Otra ruta potencial para el transporte transplacentario del VIH es la formación de complejos inmunes que se podrían unir al receptor Fc de las células trofoblásticas o de las células de Hofbauer <sup>123</sup>. Usando técnicas como la inmunoperoxidasa se ha identificado el VIH en el endotelio de los vasos, en las células de Hofbauer o en el trofoblasto <sup>136</sup>.

Un estudio, realizado por la Escuela de Medicina de Atlanta, sobre el papel de la placenta en la transmisión perinatal con 236 placentas (78 de mujeres VIH positivo y 158 de gestantes control) y siguiendo un protocolo específico desarrollado por un grupo de trabajo de patólogos, determinó en la valoración preliminar que: las placentas de madres VIH tenían mayor probabilidad de tener corioamnionitis, inflamación en las membranas placentarias y deciduitis, y menos probabilidad de tener villitis. Sin embargo, en las placentas de mujeres VIH positivo y que, además, transmitían la infección a sus hijos, esta posibilidad de encontrar corioamnionitis, funisitis o inflamación de las membranas placentarias era inferior. Estos hechos sugieren que, en esta población, las mujeres VIH positivo tenían un riesgo incrementado de desarrollar procesos inflamatorios placentarios, pero estas lesiones no estaban asociadas a una tasa incrementada de transmisión perinatal. La base del estudio era considerar que la infección transplacentaria del VIH era el mecanismo más importante en la transmisión vertical. La incidencia de villitis es diferente de lo que ocurre normalmente en mujeres sin VIH, pero tampoco sugiere una asociación con TMF <sup>139</sup>.

### VB.1.-CORIOAMNIONITIS

La corioamnionitis se define como la presencia de neutrófilos en el amnios fetal. La infección fetal puede ser ascendente, vía cervical, o por vía sanguínea a través de la sangre materna. La infección hematógena está asociada con la viremia fetal o la septicemia.

En un estudio realizado en Zaire en colaboración con el Instituto Nacional de Salud Americano, dirigido por el CDC y el Instituto de las Fuerzas Armadas de la Patología (AFIP), se apreció que existía un incremento de un 29% en la incidencia de transmisión materno fetal en gestaciones complicadas con corioamnionitis<sup>140</sup>. La corioamnionitis asociada con TMF<sup>123</sup> es independiente de la cuenta materna de CD4 o la incidencia de infecciones oportunistas. Otro trabajo realizado por la Fundación de SIDA en pediatría evidenció que la corioamnionitis histológica se asociaba a un incremento del 38% de TMF<sup>141</sup>.

La corioamnionitis en pacientes sin SIDA está directamente relacionado con la duración de la ruptura de membranas. El análisis de los hallazgos de un estudio multicéntrico mostró un incremento lineal de la transmisión materno fetal durante el parto después de cuatro horas de la ruptura de membranas<sup>142</sup>.

La amniorrexis artificial de forma electiva para inducir el comienzo del parto está relacionada con un aumento de riesgo para el feto de infección por VIH. Por un lado, la exposición de la mucosa de la orofaringe fetal con la sangre materna infectada o con las secreciones cervicales, y por otro lado, la falta de protección del amnios, provoca el contacto directo de la cara fetal con la superficie vascular del endometrio gestacional. El feto podría succionar, aspirar el VIH. Este mecanismo de exposición intrauterino-periparto da lugar a cultivos negativos, positivándose después de una semana de edad. La barrera placentaria, con su exitosa defensa durante nueve meses contra la infección por VIH, pierde la guerra contra el SIDA cuando se pone en contacto al feto con las secreciones cervicales contaminadas, en las 4 a 9 horas de trabajo de parto.

### VB.2.-VILLITIS

En el 5% al 10% de los embarazos normales en los que se examinaron 5 o más cortes de tejido placentario, se identificó la presencia de villitis focal de etiología incierta. La respuesta inflamatoria dentro de las vellosidades coriónicas es a menudo de origen materno<sup>143</sup>. Es teóricamente posible que esas células maternas puedan ser puerta de entrada para el VIH dentro de la circulación fetal. También se ha registrado la presencia de villitis entre aquellas placentas estudiadas de gestantes VIH<sup>123</sup>, así como inmadurez en la vellosidad terminal.

### VB.3.-INFECCIONES OPORTUNISTAS FETOPLACENTARIAS

La placenta es objeto de infecciones oportunistas relacionadas con el SIDA y el linfoma B<sup>144</sup>.

La sección histológica de la vena umbilical es ideal para identificar espiroquetas en la sífilis primaria o secundaria.

La criptococosis, la tuberculosis y la malaria grave<sup>145</sup> han sido identificadas en placentas expuestas al VIH.

El estado inmune materno que sufre una muy intensa depresión en los estadios finales del sida es fundamental frente a la incidencia de infecciones congénitas. Es cierto que durante estos estadios finales en que la pérdida de peso (peso < 46 kilogramos) conduce a la amenorrea, es improbable la concepción y en su caso que la gestación curse hasta la viabilidad fetal. No obstante esta situación podría teóricamente ocasionar el resurgimiento de enfermedades congénitas como el CMV, la toxoplasmosis, la listeriosis o la infección por herpesvirus en los niños nacidos de madres VIH. Así, la práctica de la perinatología patológica en áreas endémicas del VIH ha permitido ver casos de CMV y listeriosis congénita en niños nacidos de madres VIH<sup>146,147</sup>.

En África se ha registrado el incremento de la malaria placentaria (hasta un 40% de incidencia de malaria placentaria aguda)<sup>145</sup>. Esto no tiene efectos aparentes en la transmisión materno fetal, pero podría sugerir que el VIH no se transmite por los mosquitos.

### VC.-ESTUDIOS MOLECULARES

La aplicación de técnicas como la PCR *in situ* (ISPCR) ha mostrado la presencia de proteínas *gag* en la vellosidad. El trofoblasto, las células de Hofbauer y el endotelio materno y fetal podrían ser infectados por el VIH. Zevallos y Gu<sup>148</sup> fueron los primeros en descubrir el VIH en el tejido placentario por ISPCR. Resultados similares se obtuvieron usando el *Southern blot*.

Mientras que la PCR convencional o la “fase-solución” de la PCR no puede identificar la infección por VIH en el compartimiento fetal de la placenta, debido a que está contaminado con sangre materna, las técnicas de ISPCR tienen ventajas morfológicas esenciales en la verificación de la infección de la placenta. Si bien los estudios rutinarios de hibridación tienen baja sensibilidad, por el contrario, hasta una única copia podría ser detectada usando la PCR capaz de amplificar el número de cadenas de ADN<sup>149</sup>.

Con la mejora de la sensibilidad de la ISPCR, las secuencias *gag* del VIH se han detectado en el 56% de 48 placentas expuestas al VIH. Está claro que la placenta humana es una diana para la infección por VIH. Sin embargo, no existe relación directa entre la infección placentaria y la transmisión al feto. Entre 48 mujeres cuyas placentas se estudiaron por la ISPCR, solamente se detectaron cinco casos de transmisión materno fetal. En tres niños infectados la placenta no estaba infectada con el VIH, basándose en la ISPCR, y en dos niños infectados, sí era evidente la infección de la placenta<sup>150</sup>. Las madres con alta CV y cuenta baja de CD4 tenían 5 veces mayor riesgo de tener un niño infectado cuando la placenta estaba infectada. Se presumía que estos niños eran infectados durante el parto. La

técnica de la ISPCR es compleja. Se requiere de controles múltiples positivos y negativos, y necesita tres días para realizarse.

#### VD.-MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Los estudios *in vitro* han mostrado que el sincitiotrofoblasto y las células de Hofbauer permiten la infección por el VIH<sup>129,136,137</sup>. Se ha visto el virus por microscopía electrónica en el sincitiotrofoblasto, en el endotelio y en las células de Hofbauer. La hiperplasia de las células de Hofbauer es una forma de respuesta local para la defensa. Estos hallazgos no se han observado en madres tratadas con AZT<sup>133</sup>.

#### VE.-VITAMINA A

La transmisión vertical del VIH está incrementada en aquellas madres con deficiencia de vitamina A<sup>151</sup>. La vitamina A es un importante promotor de la regeneración epitelial, ocasionando, si es deficiente, una alteración en los mecanismos fetales de defensa. La deficiencia de vitamina A también está asociada con el daño de la inmunidad y el incremento de la susceptibilidad a las infecciones<sup>151,152</sup>.

#### VF.-MECANISMOS DE DEFENSA PLACENTARIOS FRENTE AL VIH

La placenta bloquea la transmisión materno fetal del VIH como mecanismo de defensa que previene la infección fetal en la mayoría de los casos. Las vellosidades coriónicas podrían ser el único tejido humano capaz de parar la replicación del VIH.

#### VF.1.-RETROVIRUS PLACENTARIOS ENDÓGENOS

Las células del trofoblasto contienen ARN retroviral endógeno con transcriptasa inversa, el cual se inserta a la doble cadena de ADN utilizando la ADN-polimerasa<sup>154</sup>. El provirus endógeno podría inhibir el ataque de VIH exógeno materno. La placenta, el timo, el saco vitelino y las células germinales contienen retrovirus endógenos. Además, se ha visto por microscopía electrónica el brote de nuevos retrovirus en la placenta normal. La conservación del genoma del ADN requiere de una serie de mecanismos placentarios para que el retrovirus quede de forma latente. La placenta humana ha servido de experiencia para el estudio de la regulación retroviral.

## VF.2.-FACTORES HLA

El VIH ataca las células diana a través de los receptores CD4, el cual está próximo al locus HLA. La susceptibilidad genética está basada en el tipo de HLA. La ausencia de expresión del HLA clásico tipo I con sus genes marcadores A, B y C puede representar un papel en la limitación de la entrada viral a través de la placenta. Aún más, el HLA-G es el único presente en el tejido placentario, y presumiblemente induce tolerancia inmunológica frente al feto. El HLA-G está producido en el citotrofoblasto extraveloso, también conocido como las células X<sup>154</sup>. Durante la implantación estas células ocupan el endotelio de las arterias uterinas. La decidua del útero grávido es rica en linfocitos granulares grandes derivados de la médula ósea, que son células *Natural Killer* especializadas. El HLA-G bloquea la actividad celular de las *Natural Killer* contra el trofoblasto fetal.

La glicoproteína del HLA-G es 86% homóloga con los tipos de HLA A, B y C. Las isoformas del HLA-G están únicamente asociadas con la  $\beta$ -2 microglobulina en el citotrofoblasto, tanto del villi como del corion. En escasa cantidad se han identificado en las células dendríticas del timo fetal, pulmón, corazón y riñones, pero no en hígado o cerebro. El cordón umbilical tiene células mononucleares positivas al HLA, pero las *stem-cell* CD34+ del cordón y las *Natural Killer* son HLA-G negativas. Como conclusión, podríamos decir que los genes del HLA pueden influir en la entrada del VIH dentro de las células diana.

## VF.3.-CITOKINAS PLACENTARIAS

La red de citocinas también está presente en una gestación normal, e intervienen en la regulación de la integración viral y la replicación<sup>125</sup>. El factor supresor trofoblástico responsable de la tolerancia materna frente al feto es el TGF- $\beta$ . Este poderoso mediador bloquea la respuesta celular, deprime la actividad de las *Natural Killer*, además de bloquear la producción de IL 2. El TGF- $\beta$  es también un potente agente antiviral, el cual podría retardar la proliferación placentaria del VIH.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ) está producido por el citotrofoblasto<sup>155</sup> y actúa sinérgicamente con el IF gamma<sup>156</sup>. El IF gamma induce receptores Fc en el sincitiotrofoblasto que podrían favorecer un lugar de unión viral a la célula<sup>157</sup>. El TNF alfa está relacionado con la progresión de la enfermedad en los adultos<sup>158</sup>, y puede encontrarse en el fluido amniótico en presencia de corioamnionitis. El incremento de los niveles del TNF alfa podría teóricamente promover la transmisión materno fetal y, como un cofactor asociado con el tiempo de rotura prematura de membranas, podría promover la transmisión vertical de madre a feto. El TNF está caracterizado como un mediador de la muerte, un catabolizador que produce apoptosis. En la interfase materna, el trofoblasto produce CSF-1, IL 2, IF  $\alpha$  e IF gamma. Estas sustancias biológicamente potentes podrían inhibir al VIH. Alternativamente, la presencia de IL 1, 2, 3 y 6 y el TNF alfa podrían aumentar la producción viral por los macrófagos<sup>125</sup>. Los macrófagos placentarios (las células de Hofbauer) producen TGF- $\beta$ , IF- $\alpha$  y prostaglandina E<sub>2</sub>.

El balance de citokinas en las vellosidades oscila entre la replicación y la latencia viral<sup>82</sup>.

### VF.4.-EXFOLIACIÓN DEL TROFOBLASTO

El trofoblasto es un epitelio que se exfolia dentro de los lagos maternos durante la gestación de forma habitual. Debido a la unión e integración viral dentro del ADN, el trofoblasto puede limpiar de células infectadas al feto. Este podría ser la primera línea de defensa fetal contra el VIH.

El análisis del ciclo celular por flujo citométrico entre placentas expuestas al VIH muestra que la relación G2/M1 oscila entre el 0.5-4.3%, frente a las pacientes controles a término en las cuales varía entre el 4.5-16.8%. Esta diferencia es altamente improbable debido a que se ha determinado por un examen no paramétrico ( $p < 0.001$ )<sup>159</sup>.

La placenta puede actuar como filtro para la transmisión fetal del VIH a través de las células trofoblásticas, tanto acelerando la normal difusión de las células trofoblásticas a la circulación materna, como bloqueando la proliferación del citotrofoblasto y, por tanto, del VIH mediante la reducción de la relación G2/M1 del ciclo celular<sup>160</sup>. Este mecanismo explicaría cómo la placenta potencialmente protege al feto de la infección por VIH en el 80-90% de los casos.

## VI.-TRANSMISIÓN NO PERINATAL DEL VIH

### VIA.-TRANSMISIÓN SEXUAL

La distribución geográfica de los casos atribuidos a la transmisión heterosexual y homosexual varía de manera notoria. Mientras que la transmisión heterosexual predomina en África, la mayoría de América del Sur y el Caribe. En Europa y América del Norte, la transmisión homosexual (hombre-hombre) representa la mayoría de casos<sup>161</sup>. En el gráfico 2 y 3 aparecen los casos notificados anualmente en España de transmisión por vía heterosexual y homosexual, respectivamente.

La transmisión sexual ocurre con una eficiencia variable que está influida por diferentes factores: la infectividad de la pareja fuente, las propiedades infecciosas del virus y la susceptibilidad del receptor<sup>162</sup>.

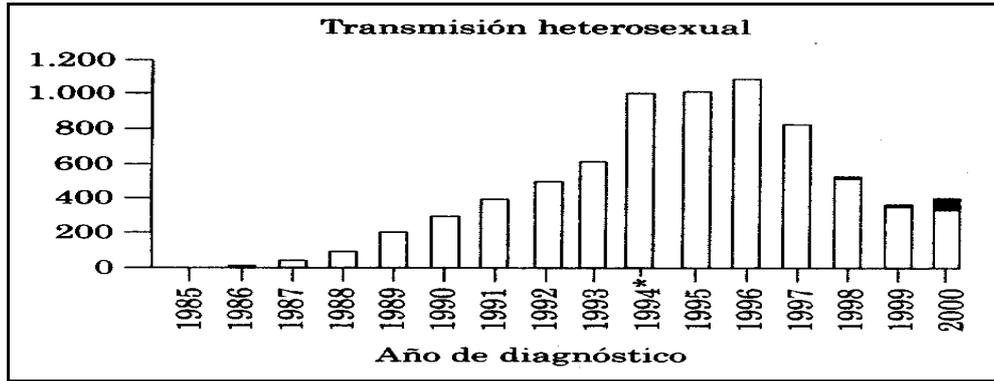


Gráfico 2.- Casos notificados anualmente de transmisión vía heterosexual. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).

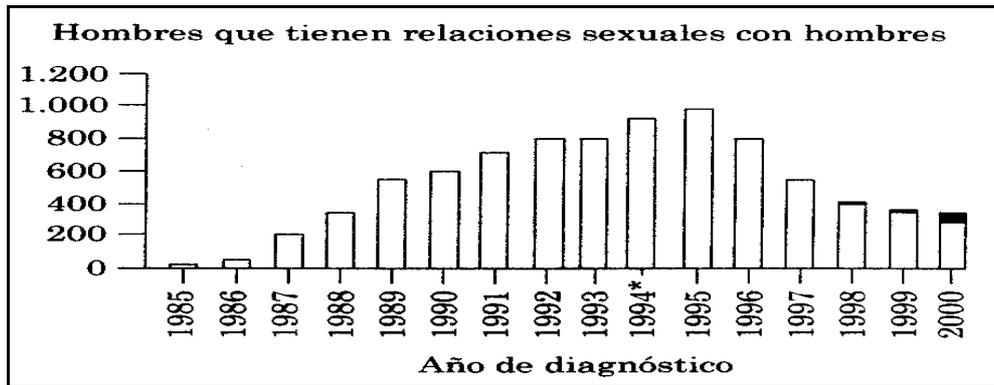


Gráfico 3.- Casos notificados anualmente de transmisión entre homosexuales. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).

### VIA.1.-INFECTIVIDAD DE LA PAREJA

La variabilidad en la infectividad se ha sugerido a partir de varias observaciones, en las cuales algunos muestran una alta capacidad de infectividad incluso a partir de un único contacto sexual.

Múltiples líneas de investigación ponen en evidencia la asociación entre la infectividad y el desarrollo de una inmunodeficiencia más grave. Esta asociación fue primero sugerida en un trabajo prospectivo con pacientes hemofílicos VIH y sus parejas sexuales<sup>163</sup>. Posteriormente, estudios epidemiológicos han apoyado la correlación entre estados avanzados de la enfermedad y un incremento en la probabilidad de transmisión sexual<sup>19</sup>. Trabajos recientes encuentran una relación dosis-respuesta inversa entre el número de linfocitos CD4 y la tasa de transmisión, mayor si el número de linfocitos es menor<sup>164,165</sup>.

En el ámbito de laboratorio, se ha encontrado que la posibilidad de aislar el virus VIH en el semen está directamente relacionado a la concentración del virus en plasma, e inversamente relacionado al número de linfocitos CD4<sup>20</sup>. De forma

similar, se ha aislado más frecuentemente al virus en secreciones cervicovaginales en mujeres con SIDA, que en aquellas que se encuentran todavía en estadios precoces de la enfermedad. En conclusión, el bajo número de linfocitos CD4 es otro indicador de incremento viral en sangre y, concomitantemente, de una excreción incrementada del VIH, mayor presencia del antígeno, ausencia de anticuerpos y elevación de los linfocitos CD8<sup>166,167</sup>. Aquellos hombres con un número incrementado de células supresoras transmitirán más el virus que aquellos con número menor<sup>168</sup>. No obstante, todas las personas infectadas son capaces de transmitir la enfermedad sin tener en cuenta el estado de la infección.

La terapia antiviral puede influir en la infectividad y el consecuente riesgo de transmisión a través del contacto sexual. El tratamiento con azitomidina (AZT) se ha asociado con la disminución de la detección del VIH en semen<sup>20</sup>. Al menos dos estudios epidemiológicos han demostrado que la terapia antiviral estaba asociada a una disminución del riesgo de transmisión entre parejas heterosexuales<sup>169</sup>.

La presencia de anticuerpos para ciertos antígenos VIH-1 podría influir en la probabilidad de transmisión a través del contacto sexual. Por ejemplo, los anticuerpos neutralizantes de la porción V3 de la envoltura proteica Gp120 inhiben la infectividad vírica<sup>170,171</sup>. Los últimos datos epidemiológicos sugieren que la presencia de anticuerpos V3 puede estar asociada con una tasa reducida de transmisión heterosexual<sup>171</sup>.

La presencia del VIH tanto en células sanguíneas como en las secreciones cervicovaginales nos ha llevado a concluir en un incremento de riesgo de transmisión mujer-hombre en los contactos sexuales durante la menstruación. Aunque esta posibilidad no está totalmente demostrada<sup>172</sup>.

La posibilidad de que la saliva de personas infectadas transmita el VIH de forma oral-oral u oral-genital es despreciable porque el VIH se encuentra en muy bajas concentraciones en la saliva<sup>173</sup>.

Por otro lado, la existencia de úlceras en los genitales del portador incrementa el riesgo de transmisión, tanto para mujeres como hombres. Las úlceras genitales pueden aumentar su difusión en el tracto genital femenino a través de una respuesta local inflamatoria mediada por la estimulación y activación de los macrófagos y linfocitos, que acuden a la superficie mucosa con solución de continuidad, la obtención del virus en las úlceras de mujeres infectadas apoya esta hipótesis<sup>174</sup>.

Algunas enfermedades de transmisión sexual no ulcerativas podrían influir también en la transmisión del VIH. Un estudio longitudinal realizado entre mujeres prostitutas en Kinshasha (Zaire) diagnosticadas de enfermedades como gonorrea, clamidias y tricomoniasis, mostró, además, la asociación con una elevada tasa de seroconversión VIH, independientemente del número de parejas o del uso del preservativo<sup>34</sup>. Por otro lado, se ha visto que los hombres portadores de enfermedades de transmisión sexual (ETS) tienen un número mayor de linfocitos y macrófagos en el tracto genital, lo cual podría incrementar la infectividad<sup>175</sup>.

Dentro de las tasas de transmisión heterosexual, se ha comprobado que varían dependiendo del modo en el cual se adquirió el VIH, siendo más baja la transmisión entre los hemofílicos que lo adquirieron a través de una transfusión, que entre los que utilizan drogas vía parenteral.

Sin embargo, la mayoría de estas observaciones pueden no reflejar la realidad, están sesgadas, son retrospectivas y no se controlaron variables como la duración de las relaciones, la frecuencia de los contactos sexuales, el uso de condones y la presencia de otros factores de riesgo. Finalmente, la diferencia en las tasas de transmisión podría reflejar factores biológicos como el estado de la enfermedad, los niveles de infectividad, la presencia de otras enfermedades de transmisión sexual y factores de comportamiento del receptor (el abuso de drogas). Lo que sí está descrito es que los hombres asintomáticos VIH positivos transmiten dos veces más que las mujeres asintomáticas<sup>172</sup>.

### VIA.2.- SUSCEPTIBILIDAD DE LA PAREJA RECEPTORA

Las úlceras anorrectales o genitales o las soluciones de continuidad en la mucosa debidos a una infección han emergido como uno de los factores de mayor consistencia, y biológicamente plausibles, que afectan a la adquisición de la infección del VIH a través de la transmisión sexual. Las ulceraciones que ocasionan solución de continuidad en el epitelio genital pueden servir simplemente como puerta de entrada para las secreciones genitales con VIH. Por otro lado, las úlceras genitales causan una respuesta inflamatoria que ocasiona un incremento del número de linfocitos estimulados en la superficie<sup>174</sup>. *In vitro*, se ha visto que linfocitos T estimulados son más susceptibles a la infección que aquellos que no lo están<sup>176</sup>. Innumerables estudios epidemiológicos han demostrado que la presencia de úlceras genitales en el receptor es un factor de riesgo para la adquisición del VIH, tanto para las relaciones homosexuales como heterosexuales<sup>176,177</sup>.

Las enfermedades de transmisión sexual no ulcerativas ocasionadas por gonorrea, clamidias, etc., podrían también poseer un riesgo de transmisión por medio de su respuesta inflamatoria<sup>34</sup>.

Las ulceraciones de origen no infeccioso del tracto genital podrían también suponer un riesgo en la transmisión vía sexual del VIH. Por ejemplo, el uso frecuente de nonoxynol 9 en esponja como contraceptivo en prostitutas estaba asociado a una tasa aumentada de úlceras genitales, vulvitis y seroconversión del VIH<sup>178</sup>, atribuyéndose el riesgo a la irritación química del espermicida o trauma mecánico. Ciertas prácticas sexuales traumáticas que ocasionan dislaceración de la mucosa rectal han sido asociadas con la infección por VIH<sup>179</sup>.

Aunque existen casos de SIDA en lesbianas o mujeres bisexuales, la gran mayoría se infectan por el uso de drogas vía parenteral. La transmisión de mujer a mujer es muy rara. En los casos registrados existía la presencia de prácticas traumáticas<sup>180</sup>.

En general, no se ha encontrado asociación entre el uso de anticonceptivos orales y la adquisición del SIDA. Mientras algunos estudios dan a los anticonceptivos un papel protector<sup>181</sup>, otros no encuentran relación alguna<sup>45,46</sup>. Al mismo tiempo, la presencia de ectopia cervical se ha asociado con un incremento de la seropositividad del VIH a largo plazo, en mujeres con compañeros seropositivos<sup>182</sup>. Como los anticonceptivos orales se han relacionado con tasas más altas de ectopia, cualquier relación con el VIH requerirá de un mayor estudio.

La vía anal-vaginal como práctica sexual se ha identificado como la de mayor riesgo. Aunque otras actividades sexuales en las que existe exposición al semen o a la sangre conlleva un potencial de transmisión del VIH. Por ejemplo, se ha visto seroconversión después de múltiples episodios de relaciones orales donde se incluía la eyaculación<sup>183</sup>.

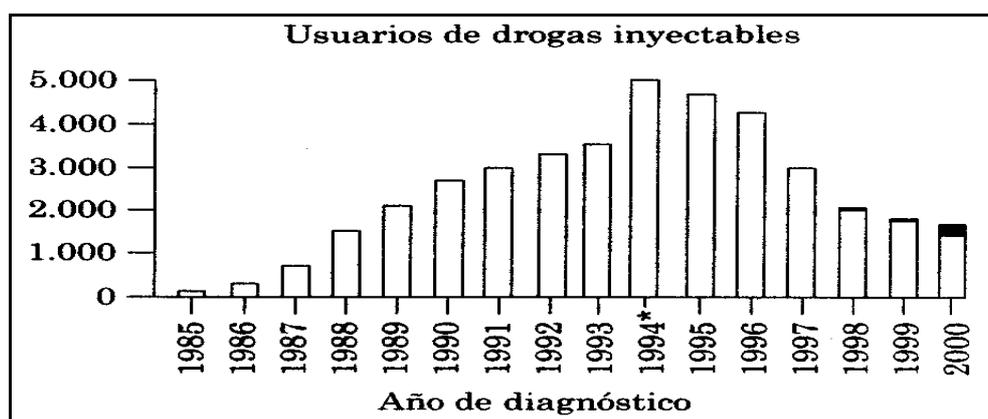
Finalmente, debemos señalar que puede influir el estado inmune. Trabajos realizados en hombres homosexuales seronegativos y parejas con hemofilia han demostrado que la inmunidad celular alterada es predictiva de seroconversión de VIH tras el contacto con el virus<sup>184</sup>.

#### VIB.-TRANSMISIÓN A TRAVÉS DE DROGAS DE USO PARENTERAL

Se han asociado factores específicos entre aquellos usuarios de drogas de uso parenteral (ADVP). Se incluyen la duración, el número de agujas que se comparten, el número de compañeros con los que se comparte, el número de pinchazos y la prevalencia del VIH en su área de residencia<sup>14</sup>. El gráfico 4 recoge los casos notificados anualmente en España de transmisión por el uso de drogas vía parenteral.

La mayoría de los estudios han encontrado que la tasa más alta de VIH está asociada con el abuso de cocaína y heroína pinchada, frente al uso de heroína únicamente, probablemente debido a la alta frecuencia de inyección de cocaína. Entre los ADVP se suman factores como bajo nivel socioeconómico, gente sin hogar, minorías étnicas o raciales, los cuales van acompañados de comportamientos de riesgo y tasas más altas de infección por VIH<sup>14</sup>.

En una investigación llevada a cabo en Baltimore de 1988 a 1989, entre personas ADVP, había un mayor porcentaje de sífilis (16.8%) entre los seropositivos, que entre aquellos que eran seronegativos (11.3%). La tasa más alta de enfermedades de transmisión sexual entre seropositivos-ADVP se debe a prácticas sexuales sin medios de protección<sup>185</sup>.



**Gráfico 4.-** Casos notificados anuales de transmisión mediante el uso de drogas vía parenteral. (Seisida, Vol 13, Nº 1, Enero 2002).

## VIC.-TRANSMISIÓN A TRAVÉS DE SANGRE Y OTROS TEJIDOS

Los receptores de sangre o productos sanguíneos no estudiados tienen un alto riesgo. El VIH se puede transmitir a través de sangre completa, componentes celulares sanguíneos, plasma y productos de la coagulación<sup>186</sup>. La probabilidad de que una persona pueda ser infectada después de recibir en una sola ocasión productos sanguíneos de una persona seropositiva es prácticamente del 100%<sup>187</sup>.

Otros productos tales como la inmunoglobulina de la hepatitis B, inmunoglobulina sérica, la globulina antiD, la vacuna de la hepatitis B, son productos con innumerables procesos de fraccionamiento que inactivan al VIH. El uso de estos productos no se ha relacionado con la transmisión del VIH<sup>188</sup>.

A partir de que el *screening* fue instituido en los bancos de sangre, el riesgo de transmisión a través de transfusiones de sangre considerada como negativa para VIH es de 1 cada 36.000 hasta 225.000 por unidad de transfusión. Tales casos se deben a seropositivos recientes en los que el anticuerpo no se ha desarrollado. Este período de ventana es por término medio de 1.5 a 2 meses, el 95% desarrollan los anticuerpos a los 6 meses<sup>189</sup>.

Ocasionalmente se ha registrado transmisión del VIH a través del trasplante de hígado, corazón, riñón, páncreas, hueso y posiblemente de piel<sup>190</sup>. Por el contrario, el trasplante de tejidos avasculares como la córnea y tejidos procesados, no ha sido asociado con la transmisión<sup>191</sup>.

## VID.-TRANSMISIÓN DEL VIH EN EL MEDIO SANITARIO

De manera frecuente, en el personal sanitario puede ocurrir exposición al VIH mediante el contacto por vía percutánea o por membranas mucosas, con sangre contaminada. Datos prospectivos obtenidos de proyectos de vigilancia entre personal sanitario, indican que el riesgo medio de seroconversión después de un pinchazo con sangre infectada es aproximadamente del 0.3%<sup>192</sup>. Se ha registrado transmisión del VIH después del contacto de sangre y superficie cutánea o de mucosa. Aunque después de realizar estudios prospectivos para cuantificar con precisión el riesgo, se han detectado muy pocas seroconversiones<sup>193</sup>.

La transmisión del VIH desde el personal sanitario hacia los pacientes ha sido probada en una sola ocasión, en una consulta dental en Florida<sup>194</sup>.

El pequeño riesgo de transmisión del VIH por el personal sanitario al paciente depende de muchos factores: el tipo de procedimiento, la técnica, la destreza y las condiciones médicas del sanitario, además del título de virus circulante.

Además, se ha descrito la transmisión del VIH a través de la exposición percutánea o mucocutánea de sangre u otras sustancias, que ocurre en hogares de pacientes que reciben cuidados médicos<sup>195</sup>.

La transmisión de paciente a paciente a través de esterilización impropia o el uso repetido de agujas o jeringas contaminadas, ha sido registrada en Rumania y la antigua Unión Soviética<sup>196</sup>.

De manera similar, estudios preliminares de una investigación llevada a cabo en Australia, encontraron el contagio de cuatro personas durante la realización de una cirugía menor, por un cirujano seronegativo, debido a un problema en la cadena de esterilización<sup>197</sup>.

#### VIE.-OTROS MODOS DE TRANSMISIÓN

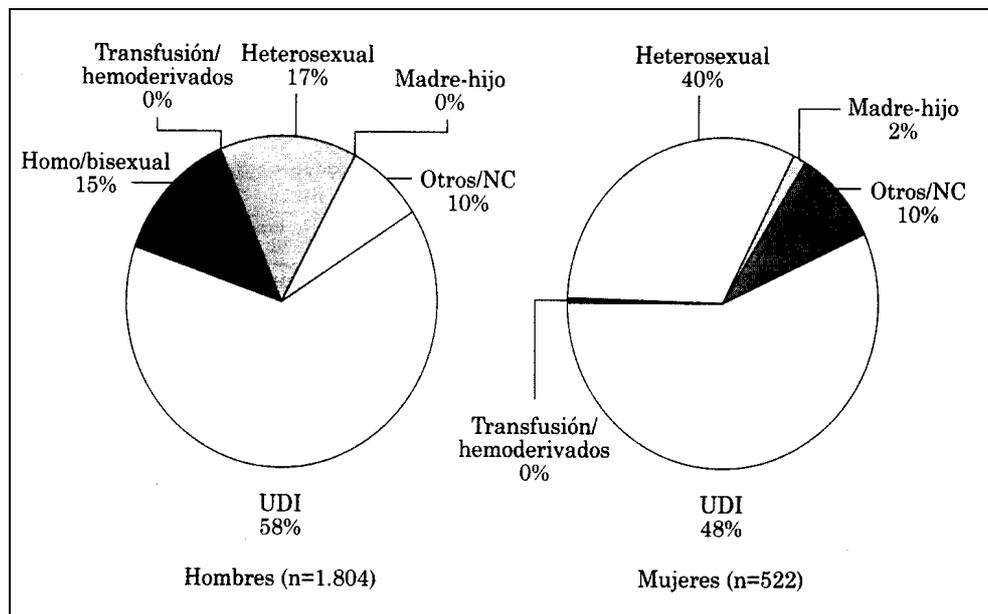
También ha sido registrada la transmisión del VIH a través de la inseminación vaginal con semen de donante no procesado y a través de la inseminación intrauterina con semen procesado<sup>198</sup>, aunque los datos en cuanto a la magnitud del riesgo son conflictivos. Por otro lado, existe evidencia de procedimientos biológicos que eliminan el virus del semen<sup>199,200</sup>.

Estudios de laboratorio y epidemiológicos indican que la infectividad de la saliva de personas VIH, a través de mordidas humanas o contacto, es extremadamente bajo. Aún más, la atribución definitiva de la transmisión del VIH a través de la saliva es difícil porque la saliva está a menudo mezclada con sangre en estas ocasiones. El bajo riesgo de capacidad transmisora de la saliva está probablemente atribuida a las bajas concentraciones existentes en las personas infectadas<sup>173</sup>, así como la presencia de sustancias inhibitorias<sup>201</sup>. Se ha registrado un caso de dos hermanos infectados con VIH, que sugirieron la mordida como ruta de transmisión. Sin embargo, si en la mordida no se produce disrupción de la piel o sangrado, el modo preciso de transmisión no resulta claro. Estudios realizados en un ambiente doméstico no han demostrado que la mordida humana sea una evidente vía de contagio<sup>202</sup>. Por otro lado, entre los realizados con el personal sanitario y pacientes VIH, es extremadamente bajo el porcentaje de seroconversión tras el contacto de mucosas (ejemplo la resucitación cardiopulmonar) con la saliva de pacientes<sup>203</sup>.

Para examinar el riesgo de transmisión a través de la convivencia, los estudios han evaluado contactos no sexuales entre adultos y niños. Entre estos, la tasa de infección fue extremadamente baja. A pesar de ello, fueron detectados 8 casos de seropositividad entre los miembros de una familia en donde no existía una vía clara de transmisión. A posteriori, en cinco de los ocho casos registrados se encontró una probable asociación con sangre. Otros dos casos, se trataban de enfermos terminales en donde la exposición a sangre, contacto de la piel con secreciones o/y excreciones pudo haber sucedido. Finalmente, en el último caso no pudo determinarse el mecanismo de transmisión.

Hasta la fecha no se ha encontrado posibilidad de replicación a través de vectores. El papel potencial del insecto como mediador en la infección del VIH, fue evaluado en un análisis realizado en los residentes en el sur de Florida, con una tasa alta de infección<sup>204</sup>. La seropositividad VIH no tenía relación ni epidemiológica ni de laboratorio con la exposición a mosquitos, medidos por la presencia de anticuerpos para cinco arbovirus. Otros trabajos posteriores hechos en África, tampoco encontraron una asociación entre la Malaria y anticuerpos contra el VIH<sup>205</sup>.

En el gráfico 5 quedan reflejados, diferenciando ambos sexos, las formas de adquisición del virus y su frecuencia.



**Gráfico 5.**-Casos diagnosticados de Sida. Homo/bisexual: hombres que tienen relaciones con hombres; UDI: usuarios de drogas por vía inyectable; transfusión: receptor de transfusión sanguínea; hemoderivado: receptor de hemoderivado; heterosexual: transmisión heterosexual; Madre-hijo: transmisión de madre a hijo; NC: no consta. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).

## VII.-TRANSMISIÓN PERINATAL DEL VIH

La transmisión de una madre a su hijo puede ocurrir durante el período intraútero, en el momento del parto, o bien en el postparto a través de la lactancia. Sin embargo, no están aclarados en su totalidad la eficiencia relativa y los mecanismos precisos de transmisión durante cada período, así como el papel del virus y de otros cofactores. En la figura 6 aparecen los diferentes mecanismos de transmisión en la edad infantil.

La transmisión durante la época intrauterina está apoyada por la detección del virus en tejidos fetales y en placenta en el primer y segundo trimestre<sup>206,224</sup>. Se ha estimado que del 30 al 50% de recién nacidos infectados con prueba positiva para la PCR o cultivo VIH al nacimiento, probablemente reflejen una transmisión durante el período precoz o en el segundo trimestre del embarazo<sup>207</sup>. La transmisión en etapas precoces de la gestación podría permitir a la replicación viral alcanzar un nivel suficiente para ser detectado por estos exámenes. Por el contrario, recién nacidos infectados con test negativo para la PCR o para el cultivo del VIH al nacimiento, reflejarían transmisión en las etapas tardías del embarazo o durante el parto.

De forma similar, las diferencias en cuanto a la instauración y progresión a la fase clínica de la enfermedad de los niños afectados preparto o intraparto pueden explicarse por el momento en el que se produce la infección.

Los datos obtenidos recientemente sugieren como el momento principal de transmisión el período intraparto. El parto vaginal o la cesárea ofrecen distintas formas de exposición del niño a la sangre materna a fluidos cervicovaginales<sup>208</sup>. Aunque muchos estudios han encontrado tasas estadísticas similares tanto para el parto vaginal como para la cesárea<sup>209</sup>, otros opinan que la cesárea puede ofrecer un ligero efecto protector frente al vaginal<sup>210,211,212</sup>.

El aislamiento del virus VIH en la leche materna<sup>213</sup> así como la aparición de casos de transmisión a través de la lactancia cuando las madres adquieren el virus en el postparto inmediato mediante transfusiones sanguíneas<sup>214</sup>, provee de una evidencia inicial de la transmisión postnatal. Estudios prospectivos en los que se relaciona la lactancia materna y la lactancia artificial han detectado una mayor tasa de seropositividad en niños con alimentación materna. Madres que adquieran el virus durante el postparto serán transmisoras presumiblemente más eficaces por el incremento de CV asociado con la infección primaria<sup>215</sup>. Por otro lado, en algunos trabajos realizados en el tercer mundo se incide en la importancia de la lactancia materna frente a otras alternativas, a pesar del riesgo de transmisión del VIH a través de la leche<sup>216</sup>.

De forma prospectiva, se ha registrado una tasa de transmisión perinatal del 13-40%, que varía según el área geográfica<sup>51,115,217,218</sup>. Un estudio europeo ha determinado en 700 niños nacidos de madres infectadas un 14% de afectación 18 meses más tarde<sup>219</sup>. Las tasas más altas de transmisión perinatal se encuentran en el continente africano. Actualmente existen unos 24 millones de seropositivos en todo el continente, pero el alto coste de las terapias, la falta de infraestructura, las barreras culturales complican enormemente la decisión de tratar únicamente a la mujer embarazada. Estudios recientes sugieren que el tratamiento de las gestantes podría reducir en un 50% el riesgo de transmisión materno-fetal<sup>278</sup>.

Esta disparidad refleja la gravedad de la enfermedad materna, el estado nutricional, el uso de la lactancia materna, el diseño, la longitud y la complejidad del estudio, y el uso de diferentes criterios. La contribución relativa de las diferencias en la cepa viral y los factores genéticos es desconocida.

Por otro lado, los niños nacidos de madres infectadas adquieren de forma pasiva anticuerpos maternos que persisten durante 12-18 meses. Para niños de 0 a 6 meses de edad la PCR<sup>220</sup> y el cultivo del virus<sup>221</sup> ofrecen la mayor sensibilidad y especificidad para detectar la infección por VIH. No obstante, estos tests pueden detectar solamente la mitad o unos pocos niños afectados perinatalmente, lo que refleja una baja CV, el secuestro del virus en otros tejidos o una transmisión reciente, al final de la gestación, el tercer trimestre o durante el parto.

Otras opciones para el diagnóstico de la infección VIH en niños incluyen la determinación de Ig A específica y anticuerpos *in vitro*<sup>222</sup>. Sin embargo, la sensibilidad y especificidad de estos tests son menores que la conseguida con la PCR o el cultivo<sup>223</sup>, especialmente para niños de menos de 3 meses de edad. En el gráfico 6 aparece el número de casos notificados anualmente en España ocasionados mediante transmisión perinatal.

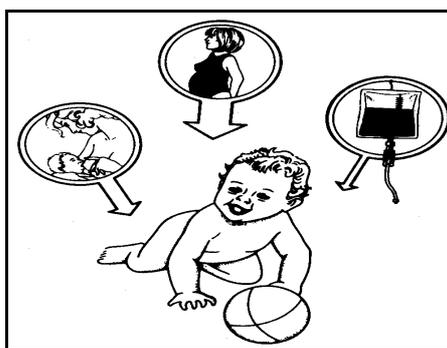


Figura 6.- Mecanismos de transmisión en la edad infantil.

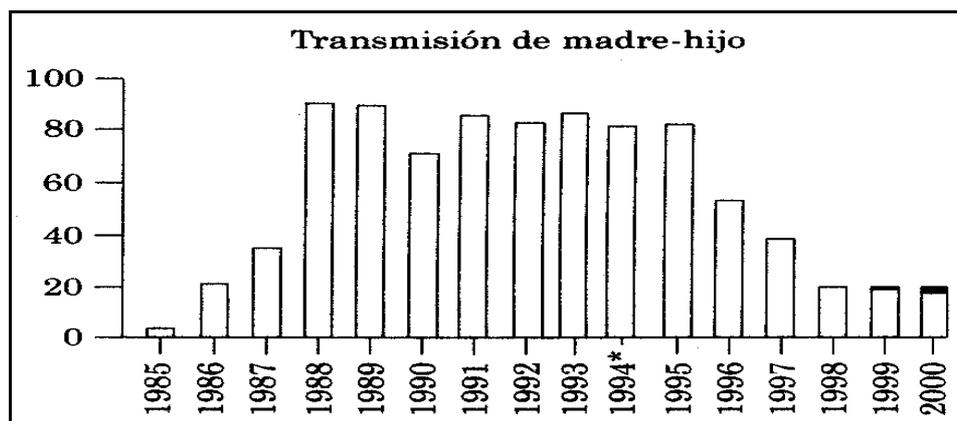


Gráfico 6.-Casos notificados anuales de transmisión perinatal. (Seisida, Vol 13, N° 1, Enero 2002).

#### VIIA.-REPERCUSIONES CLÍNICAS DEL MOMENTO DE LA TRANSMISIÓN PERINATAL DEL VIH

Si la transmisión ocurre durante la fase preembriónica (de la 3ª a la 5ª semana de gestación) y fase embriónica (de la 6ª a la 10ª semana de gestación), podría producir el daño fetal y la pérdida de la gestación<sup>224</sup>. Pero si la transmisión ocurre de forma tardía, podría ser posible la intervención. Por ejemplo, el tratamiento de la madre y el feto durante la fase final de la gestación con agentes antivirales podría hipotéticamente prevenir la transmisión transplacentaria. Si la transmisión ocurre durante el momento del parto, podrían proteger la cesárea o los antiviricos<sup>210,211,212,225</sup>.

En un análisis reciente realizado en Francia se concluyó que el rápido comienzo del SIDA en los primeros meses de vida no era frecuente, ocurriendo en sólo el 17% de los niños infectados. El SIDA no se desarrollaba en la mayoría de los niños hasta la infancia precoz, lo que sugiere que más del 80% de la transmisión ocurre intraparto<sup>221</sup>.

Otros hallazgos clínicos sugestivos de infección intraútero, tales como el retraso en el crecimiento intrauterino, no son frecuentes de la infección por VIH.

Aunque la infección materna en países no industrializados está asociada con bajo peso, prematuridad y otros resultados adversos, no siempre concurre la transmisión del virus. Así, en países industrializados no se observan diferencias relacionadas con el estado de infección y los parámetros antropomórficos al nacimiento<sup>113,114</sup>. Sin embargo, muchos artículos sugieren que el retraso de crecimiento intrauterino podría confinarse a un pequeño número de niños infectados, que, además, nacen prematuramente.

En una evaluación del momento de la transmisión, y los patrones de anticuerpos contra las proteínas virales en niños infectados, se observó la aparición de nuevos anticuerpos contra las proteínas específicas del VIH-1 en una media de 54 días de edad en casi el 70% de los niños<sup>226</sup>.

*Dunn* y sus colaboradores<sup>227</sup> valoraron mediante un meta-análisis la eficacia de la PCR-ADN del VIH-1 para el diagnóstico precoz de la infección. La infección se detectó en el 38% en el primer día de vida, en el 93%, a los 14 días de vida, y en casi el 100% a los 28 días de vida. Si la detección del VIH-1 al nacimiento representa la transmisión intraútero, al menos el 60% de transmisión podría ser intraparto.

En un estudio colaborativo francés, donde se recogieron tanto datos virológicos como serológicos dentro de una población en que no se utilizó la lactancia materna, se estimó que el 92% de toda la transmisión ocurría durante los últimos dos meses antes del parto o durante el mismo; el 65% se produce durante el período intraparto<sup>228</sup>. Por el contrario, en otro trabajo donde la población sí utilizó la lactancia materna, se concluyó que la proporción de transmisión estimada intraútero era del 23%, el 65% intraparto o en la fase precoz postparto, y en un 12% en la fase tardía del postparto a través de la lactancia materna<sup>229</sup>.

Utilizando datos del Registro Internacional de Gemelos VIH, se ha encontrado una mayor tasa de transmisión, hasta un 35%, en el primer recién nacido vía vaginal debido a su mayor exposición al final de la gestación y durante el parto a las secreciones cervicovaginales, frente al segundo gemelo nacido por cesárea, que apenas alcanza el 8%<sup>230</sup>. Tomando todos los datos clínicos, serológicos y virológicos, sugieren que al menos el 40%, y quizás tanto como el 80%, de la transmisión ocurre durante o próximo al nacimiento.

## VIIIB.-FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON LA TRANSMISIÓN PERINATAL

### VIIIB.1.-FACTORES MATERNOS Y VIRALES

Las relaciones sexuales con múltiples parejas antes y durante la gestación se asoció con un incremento de la transmisión perinatal, incluso después de ajustar el estado inmune y la presencia de infecciones genitales durante la gestación. Aunque el mecanismo de asociación es desconocido, posibles factores que se podrían incluir son: la exposición a diferentes tipos de semen asociado con un incremento de la activación inmune, la replicación del VIH-1 y la CV materna. La exposición o la

superinfección, o ambos, a diferentes cadenas virales, llevan a la madre a adquirir agentes de más virulencia. El trauma físico o la inflamación pueden ocasionar la disrupción de la membrana placentaria facilitando el acceso del virus al feto.

Muchos trabajos han demostrado que la cuenta de linfocitos CD4 maternos es un factor predictor independiente en la transmisión<sup>115,117,208,217</sup>. En un estudio francés con una cohorte de 848 madres con sus hijos, no encontraron umbral donde no ocurriera transmisión; la tasa de transmisión perinatal era del 15% para mujeres con una cuenta de CD4 sobre 600/mm<sup>3</sup><sup>231</sup>. En un estudio similar realizado en Europa<sup>217</sup>, encontraron una tasa similar, del 11%, para mujeres con una cuenta de CD4 sobre 800/mm<sup>3</sup>. Finalmente, existe otro trabajo donde, una vez ajustada la cuenta de linfocitos maternos CD4, no encontraron diferencias entre el título de anticuerpos autólogos VIH-1, CV y fenotipo que induce la formación de sincitios, tanto para las madres que transmitían como para las que no<sup>232</sup>.

Es posible que el anticuerpo pueda ser una importante protección frente a las células libres de virus pero no frente a las células asociadas al virus<sup>233</sup>. Pocos han dirigido su mirada al papel de la respuesta inmune celular materna frente al VIH. La presencia del anticuerpo materno específico VIH-1 dependiente de la citotoxicidad celular no se ha asociado con la protección de la transmisión. Pero, aunque los niños se infecten, tienen una evolución clínica más favorable<sup>234</sup>.

Por otro lado se ha encontrado una correlación entre la presencia de anticuerpos frente a una región variable de la envoltura proteica (V3 *loop*) y tasas más bajas de transmisión materno-fetal<sup>208,235</sup>.

También se ha visto que niveles bajos de vitamina A durante la gestación estaba asociado con un incremento en la transmisión<sup>151</sup>. La vitamina A tiene un efecto estimulador sobre el sistema inmune y ayuda a mantener la integridad de la superficie de las mucosa<sup>151,152</sup>. Los niveles bajos podrían asociarse a una mayor disfunción inmune permitiendo que incremente la CV. Por otro lado, también puede favorecer la disrupción de las mucosas. También se ha asociado con incremento de la CV con la leche materna<sup>236</sup>.

Aunque existe una asociación entre un número alto de copias ARN VIH-1 y el riesgo de transmisión<sup>118,216,237</sup>, no existe un umbral, ya que la transmisión podría observarse en cualquier rango de los niveles virales incluido niveles indetectables de ARN<sup>218</sup>.

Con respecto al antígeno p24, algunos investigadores no han encontrado relación entre la antigenemia p24 y la transmisión perinatal<sup>238</sup>, frente a otros que sí la demuestran<sup>239</sup>.

Otra característica del virus de la madre que podría ser importante: múltiples cadenas heterogéneas de VIH-1, cada una tiene diferentes tasas de replicación, tropismo celular, capacidad para inducir sincitios y capacidad para ser reconocida por el sistema inmune. Esto podría variar la transmisibilidad entre estas cadenas. Pero las secuencias genotípicas de los virus aislados de los neonatos infectados son más homogéneas que aquellas aisladas de sus madres<sup>240</sup>.

Algunos estudios sugieren que el fenotipo biológico viral podría influir en el riesgo de transmisión. Así los virus maternos con tropismo para los monocitos y macrófagos tienen mayor probabilidad de transmitir que los que tienen tropismo por

las células T. Los aislados de los niños infectados durante los primeros días de vida son predominantemente M-tropismo, sugiriendo la selectiva transmisión y replicación del virus con tropismo-M<sup>241</sup>. En apoyo de esta hipótesis, se ha visto, *in vitro*, que los macrófagos del neonato son más susceptibles que los de los adultos frente a la infección por VIH-1 y preferiblemente por virus con tropismo M que no inducen la formación de sincitios<sup>242</sup>.

El VIH-1 puede ser clasificado en al menos 9 diferentes subtipos genotípicos basados en la variación de la región de la envoltura del genoma viral, ello confiere diferencias entre el tropismo celular y la transmisibilidad entre los diferentes subtipos. *Renjifo* y colaboradores han demostrado por primera vez que el subtipo influye en el riesgo de transmisión perinatal y explica las diferencias en las tasas de transmisión<sup>243</sup>.

Madres en ambos extremos del espectro clínico del VIH, enfermedad avanzada o fase de seroconversión, tienen más probabilidad de transmitir el VIH a sus niños, que aquellas mujeres asintomáticas por una mayor replicación viral<sup>117</sup>.

### VIIIB.2.-FACTORES PLACENTARIOS

El estudio de placentas, de madres infectadas, ha podido aislar el VIH-1 dentro de las células placentarias; aunque esto no se ha correlacionado con el estado de infección del niño.

La infección de los macrófagos placentarios (células de Hofbauer) ha sido documentada, pero es controvertida la de las células del trofoblasto<sup>137</sup>. El mecanismo por el cual penetra el VIH podría incluir el pasaje a través de la disrupción del sincitiotrofoblasto, la endocitosis de partículas virales por las células del trofoblasto con el pasaje a través de la célula y la salida por la superficie de la membrana celular vellositaria, o el transporte activo de inmunocomplejos con la Fc Ig G<sup>244</sup>.

Los linfocitos han mostrado, en cultivos, adhesión a las células del sincitiotrofoblasto. Esta adhesión está incrementada con la presencia de citocinas tales como el TNF  $\alpha$ , el factor estimulador de los granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y la IL-1<sup>245</sup>. Es posible que tal adhesión de los linfocitos infectados al sincitiotrofoblasto podría ocasionar la infección de las mismas, particularmente en presencia de las citocinas. Por otro lado, también podría facilitar la migración de los linfocitos dentro del estroma vellositario donde la infección de los macrófagos placentarios puede ocurrir<sup>246</sup>.

Aquellas circunstancias donde la placenta se asocia con fenómenos de disrupción como la corioamnionitis<sup>139</sup>, el hábito tabáquico<sup>247</sup> y el abuso de drogas ilícitas<sup>142</sup>, están asociadas con un aumento del riesgo de transmisión. Un estudio realizado entre mujeres zaireñas demuestra que la presencia histológica de corioamnionitis y funisitis estaba asociado con una duplicación del riesgo de transmisión. En madres con valores normales de CD4 y CD8, la inflamación de la membrana placentaria incrementa en cuatro veces el riesgo de transmisión<sup>248</sup>.

### VIIB.3.-FACTORES FETALES

La susceptibilidad de las células fetales para la infección por el virus materno podría representar un papel importante. En un pequeño estudio donde se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica de niños no infectados, nacidos de madres VIH, se encontró una relativa resistencia a la infección frente al virus aislado obtenido de sus madres. El mecanismo de esta resistencia es desconocido, la reciente identificación de un correceptor para la unión entre el VIH-1 y el CD4 podría dar explicación para este fenómeno. La quimioquina CKR-5 es necesaria para la infección del virus con tropismo M<sup>249</sup>. Las mutaciones homocigotas en el gen para el correceptor CKR-5 han sido asociadas con la protección de la infección por VIH-1 en múltiples cohorte de expuestos: hemofílicos, homosexuales, consumidores de drogas de uso parenteral<sup>83,250</sup>.

El papel de la susceptibilidad genética, en algunos estudios, ha sugerido una asociación entre ciertos tipos de HLA con la transmisión<sup>251</sup>.

### VIIB.4.-FACTORES INTRAPARTO

La presencia y cantidad de virus en el tracto genital puede afectar al riesgo de transmisión<sup>208,252</sup>. *John y colaboradores*<sup>167</sup>, en un estudio realizado entre mujeres embarazadas en Nairobi, detectaron que la presencia de células infectadas por el VIH-1 en las secreciones genitales estaba asociada con inmunosupresión, anemia, secreciones anormales del cervix o vagina y deficiencia severa de vitamina A. Aunque no hallaron correlación directa entre la CV del tracto genital con la CV sistémica o la cuenta de CD4.

En otro trabajo, *Rasheed y colaboradores* encontraron que en el 17% de las mujeres con niveles altos de ARN VIH-1 no se detectó ARN VIH-1 en las secreciones cervicovaginales, y el 26% de las mujeres sin ARN detectable en plasma, tenían niveles significativos de células con virus en las secreciones genitales<sup>253</sup>.

Una exposición intensa de la piel o las superficies mucosas del niño a la sangre o secreciones maternas durante el proceso del parto, podría favorecer la ruta de transmisión<sup>254</sup>. Las células de Langerhans de la piel y tracto gastrointestinal expresan el CD4 las cuales son infectables por el VIH-1.

Otro mecanismo de transmisión es la vía oral, al tragar fluidos maternos durante el nacimiento<sup>225,252</sup>.

La importancia de los anticuerpos contra el VIH-1 de la mucosa es desconocida. Se ha visto que la difusión del VIH-1 ocurre a pesar de la presencia de anticuerpos Ig A VIH-1 específicos, lo que sugiere que este anticuerpo no neutraliza al virus<sup>252</sup>. Por el contrario, otros autores defienden que la presencia de Ig A anti-VIH-1 en las secreciones maternas estaba asociada con un incremento del riesgo de transmisión. En este caso, el incremento de anticuerpos locales podría reflejar altos niveles de replicación viral local<sup>255</sup>.

En un gran estudio de cohorte francés, se asoció un incremento del riesgo de transmisión con procesos invasivos (amniocentesis, amnioscopia)<sup>256,257</sup>.

Otros factores de riesgo obstétrico eran la ruptura prematura de membranas, la hemorragia en el parto y líquido amniótico sanguinolento<sup>128,142,256,257,258</sup>.

La prolongada duración de la ruptura prematura de membranas podría permitir incrementar la exposición de las secreciones. Esto ha llevado a muchos investigadores a sugerir que la cesárea antes del inicio del trabajo de parto podría prevenir la transmisión<sup>258</sup>. A este respecto, en un metaanálisis de estudios europeos y americanos concluyó que la cesárea electiva tenía un efecto protector independientemente del efecto que pudiese ofrecer la AZT<sup>259</sup>. Un trabajo reciente con más de 1600 madres no demostró la disminución en la transmisión después de realizar una cesárea de emergencia o una cesárea electiva<sup>260</sup>. Ninguno de los estudios publicados ha dispuesto de un control adecuado de todas las covariables.

### VIIIB.5.-FACTORES DEL RECIÉN NACIDO

La respuesta inmune del recién nacido frente a la exposición del VIH-1, podría jugar un papel en la prevención de la transmisión. Muchos investigadores han registrado una respuesta celular inmune transitoria (del 25%) en niños no infectados nacidos de madres VIH<sup>119</sup>. Estos datos sugieren que la inmunidad mediada por células en el feto o en el recién nacido podría representar un papel crucial en la protección o el aclaramiento de la infección.

### VIIIB.6.-FACTORES DE LA LECHE MATERNA

El riesgo de transmisión a través de la leche materna depende de la cantidad de exposición, el tiempo de exposición, la infectividad de la leche y la susceptibilidad específica del niño<sup>215,261,262</sup>.

Tanto el calostro como la primera leche podría constituir un riesgo, porque estas tienen un alto contenido en células y en CV<sup>263</sup>.

El antígeno p24 se detectó en la leche solamente durante la primera semana de vida, implicando que la infectividad podría ser mayor en la leche del comienzo<sup>264</sup>. Otros estudios han mostrado que la presencia de ADN por PCR en la leche, así como la duración de la lactancia, no se correlacionaba directamente con transmisión perinatal<sup>265</sup>.

La deficiencia severa de la vitamina A se asoció con un riesgo veinte veces superior de positividad al VIH, para las células de la leche materna de mujeres con un valor de CD4 inferior a 400 células/mm<sup>3</sup><sup>236</sup>.

Los anticuerpos (Ig G, Ig A e Ig M) contra el VIH-1 han sido identificados en la leche materna en una proporción significativa entre las mujeres VIH asintomáticas. En un estudio realizado en Ruanda, la combinación de ADN VIH-1 PCR en la leche materna 15 días tras el parto y la ausencia de respuesta Ig M frente al VIH-1, es un importante predictor de transmisión<sup>266</sup>.

La lactoferrina de la leche materna se ha mostrado *in vitro* como un potente antiviral tanto para el CMV como para el VIH-1<sup>267</sup>.

La inmadurez del tracto gastrointestinal podría facilitar la transmisión, la acidez gástrica está disminuida en el recién nacido y la mucosa y microvellosidades son delgadas y deficientes en células secretoras de Ig A. Sin embargo, la inmadurez del mismo no es un requisito. La transmisión también se ha registrado en niños que comenzaron la alimentación con leche materna, después del período neonatal<sup>268</sup>.

### **VIII.-PECULIARIDADES CLÍNICAS GINECOLÓGICAS DEL VIH**

Aunque las manifestaciones clínicas generales de la enfermedad son similares en el hombre y la mujer, existen diferencias en cuanto a los diagnósticos. Las mujeres infectadas tienen tasas más altas de neumonía recurrente, fundamentalmente por *pneumocystis carinii*<sup>269</sup>, así como tasas más bajas de sarcoma de Kaposi<sup>270</sup> en comparación con los hombres. Aparte, existen enfermedades específicas del tracto genital femenino que se relacionan con el estado de la enfermedad. Incluyen tasas relativamente altas de displasia cervical y vaginitis recurrentes, cuando comparamos con mujeres no infectas con similar situación socioeconómica.

#### **VIIIA.-INFECCIONES OPORTUNISTAS**

La neumonía por *pneumocystis carinii* es la enfermedad infecciosa más común tanto para hombres como para mujeres. En alguna cohorte de estudios las diferencias entre sexos en cuanto a ciertas infecciones oportunistas han apuntado hacia la candidiasis esofágica. Datos del CDC de 1989 a 1991 indican que la candidiasis esofágica se muestra como la infección oportunista inicial diagnosticada en las mujeres, mientras que se registra con mucha menos frecuencia en los hombres<sup>269</sup>. En un trabajo de cohorte con 82 mujeres infectadas, la esofagitis por *Cándida* llegó al 42% del diagnóstico inicial de infecciones oportunistas, seguido por la neumonía por *pneumocystis carinii* en un 35%. Al final del estudio, la esofagitis por *Cándida* llegó hasta el 54% de diagnósticos en esta cohorte<sup>269</sup>. Sin embargo, investigaciones realizadas a mitad de los años noventa, no encuentran diferencias entre ambos sexos en el porcentaje de aparición de esofagitis por *Cándidas*, así como de otras infecciones oportunistas. Otras infecciones vistas en mujeres incluyen la citomegalia, el herpes simple mucocutáneo recurrente, la candidiasis mucocutánea, la toxoplasmosis y la tuberculosis<sup>271</sup>.

#### **VIIIB.-PATOLOGÍA GINECOLÓGICA NO ONCOLÓGICA**

Existen manifestaciones ginecológicas que se consideran relacionadas con la enfermedad por VIH. *Sha y colaboradores* encontraron afecciones del tracto genital femenino en el 41% de las mujeres; incluían episodios recurrentes de vaginitis por

cándida en casi un 32%, lesiones preneoplásicas cervicales en un 12% y herpes genital recidivante en el 8.5%<sup>269</sup>.

También la candidiasis orofaríngea o esofágica representa una de las manifestaciones más frecuentes tanto para hombres como para mujeres, una vez que aparece la sintomatología propia del síndrome de inmunodeficiencia<sup>273</sup>. Muchos trabajos se han centrado en el riesgo y la gravedad de la candidiasis recurrente vulvovaginal en mujeres VIH, en las que se ha registrado una alta prevalencia (24 al 50%). Sin embargo, no se ha hecho comparación con mujeres no VIH de la misma población, para asegurar si estas mujeres infectadas tenían un riesgo incrementado para candidiasis crónica en el tracto genital. Dos estudios recientes compararon mujeres infectadas con no infectadas. Uno no encontró diferencia en la frecuencia de infección por cándidas<sup>274</sup>, mientras que el otro demostró mayores tasas de colonización en la mujer VIH. Sin embargo, este último no halló correlación entre el número de CD4 y la presencia de cándidas en vagina<sup>275</sup>. Faltan datos definitivos que apoyen la relación entre candidiasis vaginal recurrente sintomática con la presencia y progresión de la enfermedad.

*Chirgwin* y colaboradores registraron una mayor frecuencia de episodios de amenorrea de más de 3 meses en 248 mujeres VIH cuando se comparan con 82 mujeres control<sup>276</sup>. Estos hallazgos estaban asociados con un importante abuso de drogas. *Chirgwin* también registró que las anomalías en el ciclo menstrual eran tan frecuentes en mujeres VIH positivo como en las no afectas<sup>276</sup>.

#### VIIIC.-PATOLOGÍA GINECOLÓGICA ONCOLÓGICA

El cuarenta por ciento o más de personas infectadas con el VIH tienen cáncer y si no mueren por esta causa, es fuente de morbilidad<sup>277</sup>. Los procesos malignos y premalignos están más frecuentemente asociados con la morbilidad y mortalidad de mujeres VIH como resultado de infecciones por oncogenes como el herpes virus humano gamma (Linfoma no Hodgkin, asociado al virus Epstein-Barr; Sarcoma de Kaposi, asociado al herpes virus humano 8, el papiloma virus, asociado a la neoplasia cervical intraepitelial). El Sarcoma de Kaposi y el Linfoma no Hodgkin de células B de grado intermedio o de alto grado, fueron designadas como enfermedad que define al SIDA de forma temprana, en el curso de la epidemia de SIDA en Estados Unidos<sup>270</sup>.

Estos virus causan infecciones persistentes, las cuales usualmente quedan de forma latente hasta que el VIH induce la inmunodeficiencia. En personas inmunodeficientes, la inmunidad mediada por células está dañada y son incapaces de reconocer y eliminar al antígeno viral, por lo que no pueden desarrollar células capaces de destruir la gran cantidad de virus.

Considerando la prolongación de los años de supervivencia de los enfermos de SIDA conseguida gracias a las nuevas terapias, parece probable que se asista a un incremento de la prevalencia de Sarcoma de Kaposi o Linfoma no Hodgkin en mujeres<sup>279</sup>.

En Estados Unidos los primeros casos de Sarcoma de Kaposi aparecieron en mujeres negras a principio de los ochenta, años más tarde entre mujeres de raza blanca. De igual manera, inicialmente la incidencia de Linfoma no Hodgkin era el doble entre mujeres negras que blancas<sup>279</sup>. El CDC a finales de la década de los

ochenta registró que el Sarcoma de Kaposi era más frecuente entre hombres VIH que habían adquirido la enfermedad por vía sexual (homo/bisexual), 21%, que aquellos que se infectan a través de la sangre, 1% en hemofílicos. Y las mujeres tenían mayor probabilidad de desarrollar Sarcoma de Kaposi si sus compañeros eran bisexuales que adictos a drogas vía parenteral<sup>280</sup>.

Los resultados de un estudio epidemiológico de SIDA y Sarcoma de Kaposi en el embarazo no apoyan ni una más baja incidencia o mayor gravedad de Sarcoma de Kaposi en el embarazo<sup>281</sup>.

En otro trabajo se determinó la prevalencia del herpes virus humano 8 latente y su relación con el Sarcoma de Kaposi, detectaron que hasta un 84% de los pacientes con SK eran positivos al herpes virus 8. También era común detectarlo entre homosexuales VIH sin Sarcoma de Kaposi o en pacientes no VIH con historia de enfermedades de transmisión sexual<sup>282</sup>.

Datos actuales indican que el Linfoma no Hodgkin aparece en aproximadamente el 3% de todos los pacientes con SIDA. Con un riesgo relativo de aproximadamente 60 veces superior entre los pacientes SIDA frente a los que no los son<sup>280</sup>. Además, se ha visto que dicho riesgo es aproximadamente el mismo a través de todos los grupos de adquisición del VIH e igual entre hombres que mujeres. Esto no es aplicable en el caso del linfoma cerebral, el cual predomina de forma aplastante en hombres homosexuales blancos<sup>283</sup>. La incidencia de Linfoma no Hodgkin en mujeres blancas se ha incrementado<sup>284</sup>.

A pesar de haberse incluido el cáncer cervical invasivo en la lista de procesos que definen el SIDA en 1993, y de la consistente y fuerte evidencia del incremento del riesgo de neoplasia intracervical (CIN) en presencia del VIH, los datos hasta ahora no son concluyentes en cuanto a la relación VIH e incremento de neoplasia cervical<sup>270</sup>.

La pérdida de la inmunidad celular en presencia del VIH ha potenciado consecuencias devastadoras para la mujer en relación con el desarrollo y persistencia de lesiones preneoplásicas asociadas con el papilomavirus (HPV). Muchos estudios han encontrado asociación importante con la infección por VIH: la inmunosupresión progresiva, la infección por HPV cervical, a menudo muchos tipos de HPV, y lesiones precursoras cancerígenas<sup>270,285</sup>. En comparación con mujeres no infectadas, las que si lo están tienen tasas más rápidas de progresión de las displasias cervicales<sup>286</sup> y peor respuesta a la terapia estándar<sup>287</sup>. La recurrencia o persistencia tras el tratamiento (crioterapia, láser, conización) ha sido registrada hasta un 39% de las mujeres VIH en comparación con el 9% de aquellas con estado serológico negativo. Hasta un 45% de tasa de recurrencia en mujeres VIH con niveles de recuento de linfocitos T CD4 menor o igual que 500 células/mm<sup>3</sup><sup>287</sup>.

La común ocurrencia de la infección por HPV, a menudo de varios tipos, la rápida progresión del CIN, la alta tasa de recurrencia seguida de la terapia estándar, y a menudo la naturaleza multifocal de las lesiones en mujeres, indican la necesidad de una vigilancia clínica intensificada y un énfasis sobre las nuevas modalidades de tratamiento en mujeres VIH<sup>288</sup>.

## VIIID.-PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD Y LA SUPERVIVENCIA EN COMPARACIÓN CON LOS HOMBRES

Muchos se preguntan sobre si existen diferencias entre sexos en cuanto a la progresión de la enfermedad y la supervivencia. Mientras que artículos de finales de los ochenta sugieren que existe un curso menos favorable para las mujeres, estudios más recientes no han confirmado estos hechos. *Flanigan* y colaboradores comparan la disminución de CD4 en mujeres y hombres estudiados en *Rhode Island*, y no encuentran dichas diferencias<sup>289</sup>. Tampoco encuentran diferencias entre mujeres quienes adquirieron el VIH a través del consumo de drogas, comparadas con aquellas que lo han adquirido por vía sexual. *Melnick* y colaboradores, demostraron que la diferencia entre sexos, si hablamos de supervivencia, se ha relacionado a la accesibilidad al cuidado, los factores socioeconómicos, o las diferencias en la recepción de tratamiento antirretroviral y la profilaxis para infecciones oportunistas durante el período de estudio<sup>290</sup>.

Así, la mayoría de los datos de investigación no sugieren diferencias entre mujeres y hombres en cuanto a progresión de la enfermedad o supervivencia, después de tener en cuenta variables como la cuenta de CD4, edad y datos de seroconversión, así como una intervención médica adecuada<sup>291,292</sup>.

## **IX.-PECULIARIDADES CLÍNICAS OBSTÉTRICAS DEL VIH**

La asociación VIH-gestación ha sido un repetido tema de estudio, que no ha conseguido demostrar el desarrollo de unos resultados adversos que incluyen la prematuridad, el bajo peso o el aumento de la mortalidad perinatal, o la progresión en la infección VIH.

## IXA.-INFLUENCIA DEL VIH EN LA GESTACIÓN

En un estudio de cohorte en Estados Unidos, *Minkoff* y colaboradores no encontraron diferencias significativas entre las complicaciones obstétricas y resultados perinatales al comparar 91 mujeres VIH con 126 mujeres no infectadas, atendidas en el mismo centro<sup>113</sup>. *Selwyn* y colaboradores aseguraron obtener resultados similares en gestantes toxicómanas<sup>114</sup>.

Por el contrario, *Temmerman* y colaboradores<sup>293</sup>, en un estudio caso-control con 1507 mujeres en Nairobi, hallaron una relación entre madres VIH positivo y bajo peso en el nacimiento, así como gestante con sífilis y muerte fetal.

*Ryder* y colaboradores<sup>115</sup> encontraron nuevamente una asociación con bajo peso al nacimiento y prematuridad entre las mujeres VIH de Kinshasha (Zaire), cuando se comparaba con las que no lo eran. Las diferencias entre los resultados en Estados Unidos y África son patentes, y en parte, están influidas por factores que inducen a la confusión como el abuso de drogas y la prevalencia de ETS en la población.

Otros hechos sugieren que la fertilidad podría decrecer en las mujeres VIH. En Africa, *Gray* y colaboradores<sup>295</sup> encontraron una disminución de la fertilidad

entre mujeres VIH en Uganda, si se comparaban con aquellas que no eran VIH. *Langston* y colaboradores<sup>224</sup> registraron altas tasas de abortos en el primer trimestre en mujeres infectadas en comparación con las que no lo estaban.

Muchos estudios han valorado la presencia del VIH en las secreciones cervicovaginales. La recuperación del VIH de las secreciones vaginales y cervicales ha variado ampliamente, la tasa va del 14 al 67% dependiendo de la técnica y el investigador<sup>41</sup>. La presencia del VIH en el tracto genital ha sido asociada con la inflamación cervical<sup>296</sup> y con la ectopia cervical<sup>41,42</sup>. Varios trabajos de cohorte han encontrado una relación inversa entre la gravedad de la enfermedad y la difusión en el tracto genital femenino del VIH-1. El recuento más bajo de CD4 está inversamente correlacionado con un incremento en la prevalencia de la detección del VIH-1 en los lavados de las secreciones vaginales<sup>40,297</sup>.

### IXB.-INFLUENCIA DE LA GESTACIÓN SOBRE EL VIH

Otra línea de investigación ha dirigido la mirada hacia la relación que pueda existir entre el embarazo y la progresión de la enfermedad, ya que la gestación está relacionada con la aparición de una relativa inmunosupresión. *Alger* y asociados no encontraron cambios significativos en los parámetros inmunes tales como el porcentaje de CD4 y CD8 durante el embarazo<sup>37</sup>. Así mismo, *Tuomala* y colaboradores determinaron que la tasa de linfocitos permanecía estable durante la gestación<sup>100</sup>.

Tampoco, *Johnstone* y colaboradores han encontrado diferencias en cuanto a progresión de la enfermedad o supervivencia en mujeres embarazadas VIH en relación con otras no gestantes<sup>298</sup>. Previamente se pensó que la inmunosupresión durante la gestación podría producir un incremento de los niveles de CV prenatalmente (incremento del ARN plasmático). Sin embargo, muchos estudios recientes han indicado que la CV plasmática permanece estable durante la gestación. Mínimos descensos están relacionados con el tratamiento con inhibidores de la RTI. Así, los hallazgos sugieren que la gestación no supone un impacto desfavorable en cuanto a progresión de la enfermedad en mujeres VIH.

### X.-DETECCIÓN DEL VIH-1

Entre 1983-1984 se identificó al virus de la inmunodeficiencia tipo 1 a través de pruebas serológicas en las que se reconocían los anticuerpos en el suero de los pacientes con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida<sup>299</sup>. Al primer ensayo para screening en sangre se le dio licencia para uso comercial el 2 de marzo de 1985, momento en el que todos los centros comenzaron a realizar el screening para anticuerpos VIH-1 a todo los donantes de sangre<sup>300</sup>.

En diciembre de 1985, el Centro de Control y Prevención de la Enfermedad extendió su recomendación de realizar el estudio en mujeres embarazadas o que pudieran quedarse embarazadas mientras formaran parte del grupo de riesgo para la

infección por VIH<sup>301</sup>. En la primavera de 1986, se amplió su aplicación entre aquellas personas que eran atendidas por enfermedades de transmisión sexual o prostitutas o adictos a drogas de uso parenteral, o bien las parejas regulares de este grupo de riesgo, homosexuales o bisexuales<sup>302</sup>. Incluso se recomendó en aquellas personas que recibieron una transfusión entre 1978 y 1985 y para todos los pacientes con tuberculosis<sup>303</sup>, así como para el personal sanitario expuesto a fluidos de riesgo (sangre, líquido amniótico, líquido cefalorraquídeo, semen, secreciones vaginales, líquido pleural, pericárdico, peritoneal).

A medida que creció la población de alto riesgo a la que se aplicaba el test diagnóstico, aumentaron las limitaciones del test de “primera generación” por inmunoanálisis. El uso del ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) para *screening* entre los donantes de sangre permitiría no excluir de forma innecesaria a gran cantidad de individuos, recomendándose en los bancos de sangre un examen confirmatorio entre aquellas personas con un primer resultado positivo. Esto permitiría, además, minimizar el estrés emocional entre los sujetos que son incorrectamente categorizados como positivos. Actualmente el *Western Blot* (WB) se utiliza como test auxiliar<sup>304</sup>. Con el propósito de incrementar la especificidad de ambos, *screening* y test confirmatorio, se desarrolló una proteína sintética específica del VIH para los inmunoanálisis, producida por tecnología recombinante<sup>305</sup>.

### XA.-RESPUESTA SEROLÓGICA FRENTE A LA INFECCIÓN POR VIH

Después de la infección, el antígeno p24 es el primer marcador serológico que se detecta<sup>306</sup>. La aparición del anticuerpo p24 está temporalmente asociada con la caída de los niveles del antígeno p24. Los anticuerpos carboxiterminal Gp41 de la Gp160 a menudo son detectados antes que los anticuerpos p24 mediante WB, inmunoanálisis competitivos usando antígenos recombinantes o radioinmunoprecipitación (RIPA)<sup>306</sup>. El resto de los anticuerpos aparecen de modo progresivo en las semanas siguientes. Antes de la aparición de los anticuerpos contra proteínas del VIH-1, puede detectarse antigenemia en más de la mitad de los casos durante 2 a 6 semanas. En la figura 7 queda recogida la evolución de los marcadores serológicos en la infección por VIH-1.

En los recién nacidos infectados, el anticuerpo Ig M aparece de 2 a 4 semanas después de la infección y el pico a las 3 a 8 semanas, para decrecer luego lentamente<sup>307</sup>. La Ig A aparece a los 3 a 6 meses de la infección, paralelamente a la aparición de la Ig G<sup>308</sup>. Los ensayos que determinan Ig M tienen escasa sensibilidad debido a su baja concentración en comparación con la Ig A y la Ig G. A los 6 meses de la infección por VIH-1, la detección de anticuerpos es positiva en el 95%<sup>309</sup>. Meses o años después del desarrollo de los anticuerpos contra las proteínas del *core* o de la envuelta, pueden reaparecer los antígenos del *core*; esto normalmente coincide con la desaparición de los anticuerpos p24 y está correlacionado con la aparición del SIDA<sup>306,310</sup>.

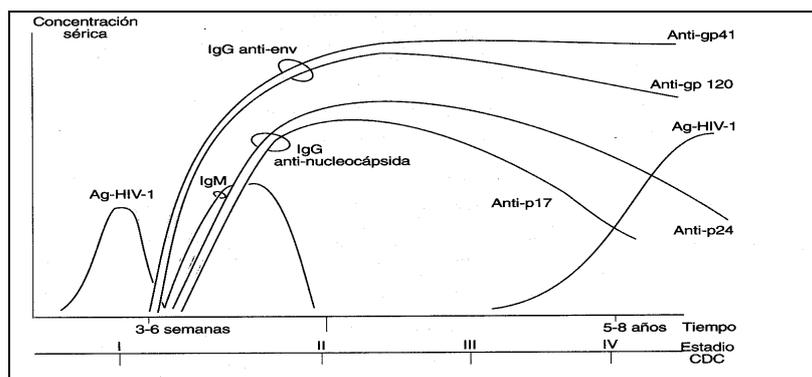


Figura 7.- Evolución de los marcadores serológicos en la infección por VIH-1.

## XB.-DETECCION DE LOS ANTICUERPOS DEL VIH-1

### XB.1.- INMUNOANÁLISIS

El inmunoanálisis (EIA) es el método más empleado como prueba de rastreo<sup>311</sup>. Existen al menos nueve tipos de inmunoanálisis disponibles para la detección de anticuerpos VIH-1; la mayoría usan virus procedentes de células cultivadas y lisadas, algunos con antígenos purificados parcialmente, mientras dos tipos utilizan antígenos proteicos realizados por tecnología recombinante, y otro a base de antígenos peptídicos sintéticos (segunda y tercera generación), que producen epítomos inmunogénicos del virus<sup>305</sup>. Los EIA de segunda generación son más sensibles y, sobre todo, más específicos que los de primera generación<sup>311</sup>. Estos pueden presentar falsos positivos en pacientes con enfermedades autoinmunes o con determinados fenotipos HLA.

Las pruebas de EIA pueden estar diseñadas a partir de metodología indirectas o competitivas según el mecanismo por el cual se reconozca la presencia de anticuerpos en la muestra problema. El EIA indirecto utiliza viriones desestructurados mediante detergentes y absorbidos en pocillos. Sobre ellos se añade el suero problema y, más tarde, una inmunoglobulina humana de tipo Ig G, a la que se ha ligado un enzima, que proporciona color al añadir un sustrato, en los casos positivos. El EIA competitivo se basa en la diferente afinidad que presentan anticuerpos exógenos fijados en un pocillo. Los EIA indirectos son más sensibles y los EIA competitivos son más específicos. En los últimos años se han desarrollado otras técnicas de EIA, que son más sensibles y específicas que las iniciales. Utilizan como antígenos proteínas recombinantes o péptidos sintéticos (de 10 a 40 aminoácidos) específicos del VIH-1. Las dos técnicas principales son el EIA tipo *sandwich* (EIA de tercera generación) y el EIA de captura. El primero permite detectar todas las subclases de anticuerpos y no sólo de la clase Ig G. De esta forma, su sensibilidad es mayor para el diagnóstico de la infección pediátrica, que cursa con Ig A e Ig M sólo si el niño está infectado. El EIA de captura es un método de gran especificidad merced a la fijación de inmunoglobulinas antiVIH-1 en un soporte y la

posterior adición de antígenos víricos, que son los que interactúan con los anticuerpos que pueda haber en la muestra problema<sup>311</sup>.

En general son pruebas aprobadas para los bancos de sangre, con excelente sensibilidad, superior al 99%<sup>312</sup>.

Hasta ahora con las técnicas descritas quedaba al descubierto un período ventana de 3 semanas de media entre la contaminación y la aparición de los primeros anticuerpos. Estudios recientes han demostrado que el antígeno p24 está presente en este período en la mayoría de los infectados, sea cual sea su origen. La detección simultánea de la antigenemia p24 y de los anticuerpos anti-VIH-1 y anti-VIH-2 permite reducir el retraso en el diagnóstico y aumenta la sensibilidad<sup>313,314</sup>. Aparecen los tests de cuarta generación que asocia dos reacciones enzimáticas a una detección final en fluorescencia (ELFA). En la primera reacción detecta las inmunoglobulinas G anti-VIH-1 y anti-VIH-2, y en la segunda reacción detecta antígeno p24. Utiliza también péptidos sintéticos (Gp41, Gp36 y grupo O) y anticuerpo anti-p24. Aplicaciones del test: donaciones (tejidos, órganos y sangre) muestras con problemas de interpretación, accidente laboral o antecedentes de riesgo (ADVP, prostitución)<sup>315</sup>.

En la siguiente tabla número 5 se describen las características de los diferentes tests de inmunoanálisis que se aplican en la detección del VIH.

	<b>1ª Generación</b>	<b>2ª Generación</b>	<b>3ª Generación</b>	<b>4ª Generación</b>
<b>Antígeno</b>	Lisado viral	Recombinados/ Sintéticos	Recombinados/ Sintéticos	Recombinados/ Sintéticos
<b>Elisa</b>	Indirecto	Indirecto	Sandwich	Indirecto/ Sandwich
<b>Anti-VIH Ig</b>	IgG	IgG	Ig G y Ig M	Ig G y Ag p24
<b>Sensibilidad</b>	+	++	+++	++++
<b>Especificidad</b>	+	++	+++	+++
<b>Año</b>	1985	1987	1989	1997

**Tabla 5.-**Características de los tests diagnósticos de inmunoanálisis.

## **XB.2.-PRUEBAS DE DETECCIÓN RÁPIDA**

Existen dos metodologías para detectar anti-VIH-1 con rapidez y sencillez: las pruebas de aglutinación (péptidos recombinantes o sintéticos) y que muestra gran sensibilidad y especificidad<sup>316</sup>; y las técnicas de inmunoadherencia (dot-blot), sobre todo en situaciones urgentes como los transplantes<sup>294</sup>.

Hay que tener en cuenta su disponibilidad, el precio, la facilidad de utilización, su sensibilidad y, particularmente, su especificidad<sup>317</sup>.

### **XB.3.-PRUEBAS COMBINADAS**

Utilizadas sobre todo en los bancos de sangre, permiten detectar de forma simultánea anticuerpos contra varios virus (Hepatitis B, VIH-1, VIH-2, etc.)<sup>318</sup>. En 1991 la FDA aprobó la primera de estas pruebas combinadas de rastreo para la detección de anticuerpos contra el VIH-1 y el VIH-2 en los bancos de sangre<sup>319</sup>.

### **XB.4.-PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN**

El *Western Blot* es la metodología más empleada para la confirmación de resultados obtenidos con pruebas de rastreo. En 1987, la FDA propuso unos criterios de positividad del WB muy restrictivos: *sólo debían considerarse positivas las muestras con bandas contra al menos una proteína de cada uno de los tres genes estructurales*. La especificidad de los criterios de la FDA es muy elevada, aunque su escasa sensibilidad proporciona un inaceptable número de resultados indeterminados<sup>320</sup>.

En 1989 el CDC revisó los criterios de positividad del WB, que definieron por la presencia de *al menos dos de las tres bandas correspondientes a los genes estructurales que codifican las proteínas p24, Gp41 y Gp 120/Gp160*, ofreciendo una mayor sensibilidad y conservando la especificidad<sup>320</sup>.

En 1990 la OMS estableció una nueva nomenclatura donde la presencia de *al menos dos bandas de la envoltura dan la positividad, la negatividad resulta de la ausencia de bandas, y el resto de los patrones se consideran indeterminados*<sup>321</sup>. Aunque hasta ahora el WB ha sido la metodología más utilizada para la confirmación de la reactividad en las pruebas de rastreo, en los últimos años los inconvenientes de la técnica están desplazando su uso:

1. Elevado coste económico, requerimiento de tiempo prolongado y aconsejándose su realización mediante personal adiestrado<sup>320</sup>.
2. Variabilidad en la reactividad de las bandas<sup>322,323</sup>, según el tipo de prueba, procedencia de las muestras, condiciones técnicas del ensayo y criterio del lector.
3. Diferente valor predictivo diagnóstico de cada banda<sup>324</sup>.

Se han diseñado sistemas informatizados de semicuantificación de las bandas de WB que persiguen objetivar la reactividad de las muestras y la interpretación final del patrón WB. La limitación fundamental del WB lo representan el diferente valor predictivo que tiene cada una de las bandas, sobre todo las proteínas de la nucleocápside p17, p24 y otras pueden ser fruto de reactividad inespecífica (en un 15-20% de donantes de sangre no infectados)<sup>324</sup>. La sensibilidad es mayor si se detectan anticuerpos frente a la nucleocápside que frente a la envoltura. Posteriormente se han diseñado tiras de WB que incorporan proteínas

recombinantes o péptidos sintéticos correspondientes a proteínas de la envoltura, en un intento por salvaguardar la sensibilidad frente a estos antígenos, que son los más específicos<sup>325</sup>.

Las causas de resultados indeterminados por el WB son: la infección por VIH-2<sup>326,327</sup>, la seroconversión para VIH-1<sup>328</sup>, pacientes en estadios muy avanzados de la enfermedad cuando el deterioro inmunológico grave y la presencia de inmunocomplejos pueden reducir el título de anticuerpos anti-VIH-1 circulantes<sup>320</sup>, niños nacidos de madres seropositivas, tanto si se trata de niños verdaderamente infectados como de portadores pasivos de anticuerpos maternos durante el primer año de vida, sujetos infectados africanos, probablemente en relación con la mayor divergencia genética de las cepas africanas del VIH-1<sup>329</sup> y finalmente, una reactividad inespecífica o cruzada con otros anticuerpos<sup>324</sup>. En estos se recomienda analizar una segunda muestra mediante EIA y WB a los seis meses. Se aconseja, además, determinar la antigenemia o realizar pruebas específicas para VIH-2 o pruebas confirmatorias para el VIH-1, como IFI (Inmuno fluorescencia Indirecta), RIPA (Radioinmunoprecipitación), etc<sup>323,330</sup>.

### **XB.5.-PRUEBAS SUPLEMENTARIAS**

Otras pruebas accesorias para la discriminación y confirmación de las muestras reactivas de las pruebas de rastreo, se basan en análisis inmunoenzimáticos de tipo lineal (LIA) e incorporan en un soporte plano una o varias proteínas recombinantes o péptidos sintéticos del VIH-1. Éstas gozan de una alta sensibilidad y especificidad<sup>330,331,332</sup>. Sin embargo, puede ser causa de falsos negativos en la infección aguda por VIH-1 y en la infección pediátrica<sup>332</sup>.

### **XC.-DETECCION DEL ANTÍGENO P24**

Desde 1986 se disponen de pruebas de EIA para el reconocimiento de antígenos del VIH-1 en plasma y otros líquidos biológicos<sup>306</sup>. En el curso de la infección por VIH se producen anticuerpos contra las diferentes proteínas del virus los cuales se utilizan con fines diagnósticos. El antígeno p24 es una proteína de 24.000 daltons que aparece circulando en el suero de individuos infectados como consecuencia de la replicación del virus.

Durante la infección aguda, la antigenemia precede a la seroconversión, usualmente desaparece en 2 o 3 semanas cuando aparecen los anticuerpos pero podría persistir durante 6 a 14 meses antes de la misma. Las aplicaciones de la detección de antigenemia p24 permite valorar claramente la *evolución clínica* en sujetos asintomáticos o con el complejo relacionado con el SIDA. Además del seguimiento de la *respuesta a antiviricos*, el diagnóstico precoz de la *infección aguda* por VIH-1, diagnóstico de la *infección vía vertical*, identificación de sujetos

seropositivos con *elevada infectividad* (virémicos) y el reconocimiento de la *replicación vírica en cultivos celulares*.

No obstante existen factores que condicionan la detección de la antigenemia. El estadio de la enfermedad, mientras que sólo un 10-20% de los sujetos infectados asintomáticos tienen antigenemia detectable, esta se demuestra hasta un 60% de los pacientes con SIDA<sup>333</sup>. La razón menos frecuente, la antigenemia entre sujetos de raza negra que suele ser inferior que en los de raza blanca<sup>334</sup>. La administración de antivíricos provoca una reducción como reflejo de una menor replicación<sup>335</sup>. La aparición de infecciones oportunistas condiciona indirectamente la estimulación de la replicación vírica<sup>336</sup>. Finalmente, el tratamiento ácido del suero antes de la determinación de la antigenemia puede aumentar la sensibilidad de la técnica<sup>337</sup>.

Este curso bifásico que sigue la antigenemia en la infección VIH es la causa de porqué se ha utilizado como marcador de progresión de la enfermedad. Cuando se asocia a otros predictores como el nivel de linfocitos CD4, la CV, la  $\beta$ -2 microglobulina, la correlación es mayor.

La detección precoz del antígeno p24 confirma la existencia de una infección primaria, pero éste no es detectado con las técnicas de 3ª generación. De ahí, el interés que tienen los tests de 4ª generación. Gracias a la detección combinada de antígeno p24 y anticuerpos anti-VIH-1 y anti-VIH-2, ha aumentado la sensibilidad para la detección de una infección primaria.

### XD.-CULTIVO VIRAL

El aislamiento del VIH-1 se puede realizar a partir de células o, con más dificultad, de líquidos acelulares procedentes de sujetos infectados. El VIH-1 infecta preferentemente linfocitos T CD4, aunque un amplio espectro de células humanas puede ser su diana.

Mientras que el cultivo vírico sólo se alcanza en un 30-40% de pacientes infectados asintomáticos, es positivo en más del 90-95% de pacientes con SIDA<sup>338</sup>.

La demostración de la presencia del virus en los cultivos puede hacerse mediante varias técnicas: observación directa del efecto citopático con un microscopio óptico invertido; detección del antígeno p24 en el sobrenadante o en las propias células mediante anticuerpos monoclonales<sup>339</sup>; determinación de la actividad de la retrotranscriptasa en el sobrenadante del cultivo<sup>340</sup>; detección del ADN provírico o del ARN vírico mediante PCR<sup>341</sup>; y reconocimiento de partículas de tipo retrovírico mediante microscopía electrónica<sup>350</sup>.

El aislamiento constituye la técnica más específica para el diagnóstico de la infección por VIH-1. Sus aplicaciones son: la infección en pediatría<sup>342</sup>, la infección silente<sup>343</sup>, estudios de variabilidad genética y epidemiología molecular<sup>344</sup> y sensibilidad a antivíricos<sup>345</sup>. Además, es imprescindible para la caracterización biológica de las diferentes cepas del VIH-1<sup>345</sup>.

## XE.-TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Las técnicas de diagnóstico genético para la infección por VIH-1 se pueden clasificar en:

- A.) Hibridación Simple (dot-blot, hibridación *in situ*).
- B.) Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y variantes: doble PCR, PCR *in situ*, PCR competitiva.
- C.) Amplificación por reacción en cadena de la ligasa (LCR).
- D.) Amplificación por el complejo de la Q-B replicasa.
- E.) Sistema de amplificación basado en la transcripción (TAS).
- F.) Reacción en cadena del promotor (TCR).
- G.) Amplificación isotérmica con ARNsa (NASBA).
- H.) Técnica del ADN ramificado (Branched-ADN).

Por un lado, las pruebas serológicas tienen el inconveniente no sólo de depender de la capacidad de respuesta de los anticuerpos del huésped, sino también de la variabilidad antigénica del virus. Fue el patrón serológico atípico en los sujetos africanos con SIDA lo que condujo al descubrimiento del VIH-2<sup>56</sup>.

Frente a esto, el aislamiento por cultivo vírico constituye la mejor evidencia de la infección, pero la sensibilidad de este complejo procedimiento es muy variable en los diferentes laboratorios y en los distintos estadios de la infección por VIH-1<sup>346</sup>.

Sin embargo, es un recurso de escasa sensibilidad por varias razones:

- 1) El virus pasa la mayor parte de su ciclo vital como provirus, esto es, incorporado al genoma de célula infectada, con una fase de viremia ocasional y que, por ejemplo, en la primoinfección sintomática no suele superar los 10-14 días<sup>306</sup>.
- 2) El número de células que producen activamente partículas víricas libres es muy reducida<sup>347</sup>.
- 3) La formación de agregados e inmunocomplejos circulantes oculta una proporción de la antigenemia detectable variable<sup>337</sup>.
- 4) La sensibilidad intrínseca de las pruebas que hasta ahora han sido utilizadas para detectar antigenemia parece ser escasa<sup>337</sup>.

La posibilidad de obtener un elevado número de copias de una secuencia genómica mediante amplificación enzimática selectiva ha revolucionado la biología molecular en los últimos años<sup>348</sup>. Mediante la PCR se han podido detectar fragmentos del genoma del VIH-1 en pacientes con SIDA<sup>349</sup>, en individuos infectados asintomáticos<sup>349</sup> y en sujetos de colectivos de alto riesgo expuestos recientemente al virus y que aún no habían desarrollado una respuesta inmunológica<sup>343</sup>. Pero a pesar de la extraordinaria sensibilidad de la PCR, se han descrito resultados negativos por PCR en sujetos portadores de anticuerpos, generalmente asintomáticos. Puede explicarse por el reducido número de células que

son portadoras del virus en los individuos infectados y, en segundo lugar, porque la muestra de ácido nucleico que se analiza mediante PCR es reducida. También puede aparecer falsos negativos por la presencia en las muestras de ácidos nucleicos deficientes, de cepas de VIH-1 que presentan secuencias genómicas mutadas o defectivas en la región analizada por PCR y, por último, la posibilidad de infección por cepas del VIH-1 con tropismo selectivo por otras células distintas de los linfocitos CD4 como son los monocitos-macrófagos<sup>352</sup>.

### XE.1.-HIBRIDACIÓN *IN SITU*

Es un método relativamente simple que permite detectar secuencias específicas de ácidos nucleicos preservando tanto los cromosomas, como las células y las secciones de los tejidos. Aunque se trata de una técnica laboriosa, ayudada con la inmunocitoquímica, la hibridación *in situ* es, en muchas ocasiones, una primera aproximación al *mapping* físico con una gran resolución, que posteriormente se refina con otros procedimientos.

Fue desarrollada originalmente por *Pardue y Gall* en 1969<sup>353</sup> e independientemente por *John* y colaboradores en el mismo año<sup>354</sup>. En ese momento los radioisótopos eran los únicos marcadores disponibles para los ácidos nucleicos y la autorradiografía el único medio de detectar las secuencias hibridadas<sup>355</sup>. La hibridación *in situ* estaba restringida a aquellas secuencias que podrían ser purificadas y aisladas por métodos convencionales. Años más tarde, oligonucleótidos marcados radiactivamente comenzaron a ser utilizados, especialmente para la detección de ARNm<sup>355</sup>. A pesar de la alta sensibilidad y la aplicabilidad de la técnica, su uso estaba limitado a determinados laboratorios debido a problemas relacionados con las medidas de seguridad que requiere la radioactividad. La llegada de la clonación molecular y los cambios en las técnicas de marcado radiactivo han supuesto una mejora en la calidad y una mayor difusión de la técnica.

La hibridación del DNA permite localizar en los cromosomas determinadas secuencias. En el núcleo en interfase, determinar secuencias específicas dentro de la cromatina que caracterizan el estado del ciclo celular. En la hibridación *in situ* del ARN celular, hace posible el estudio del ARN de células individuales no afectas de otras células del tejido.

### XE.2.-REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

Esta técnica desarrollada en los últimos años ha tenido un impacto revolucionario en los estudios y el diagnóstico molecular. La PCR es una técnica enzimática que permite fabricar *in vitro* un número teóricamente ilimitado de copias de una secuencia de ADN conocida, gracias a la repetición cíclica de tres pasos o reacciones simples en la que sólo varía la temperatura de incubación. Esto supone

disponer de forma rápida y eficaz de cantidades suficientes de una determinada secuencia de ADN para su posterior estudio molecular.

Es un método simple de síntesis de ácidos nucleicos *in vitro*, en el que el número de moléculas generadas se duplica tras cada ciclo del proceso, de tal forma que si se empieza con una sola doble cadena de ADN, después de 20 ciclos dispondríamos de un millón de copias del fragmento amplificado. Para su realización se requieren unos reactivos básicos, que se someten a diferentes cambios cíclicos de temperatura. Estos son: la muestra o molde de ADN a amplificar, dos oligonucleótidos, llamados cebadores o *primers*, cada uno de ellos complementario a cada una de las hebras del ADN molde al que flanquean, con una corta distancia entre ellos, una cantidad abundante de los cuatro deoxinucleótidos trifosfatos y una enzima, una ADN polimerasa, que se encargará del proceso de síntesis de las nuevas copias de ADN a partir del ADN molde<sup>356,357</sup>.

Las aplicaciones principales de la PCR son: la detección de ADN provírico en niños de madres seropositivas, la detección vírica en el período de seroconversión, la detección en individuos con WB indeterminado, el diagnóstico en la coinfección por VIH-1 y VIH-2, la cuantificación del VIH-1 en células mononucleares de sangre periférica o plasma y la determinación de cepas víricas resistentes a antirretrovíricos.

Puede ocurrir que el análisis se realice en ocasiones en una población celular carente de células infectadas o con un número excesivamente reducido de las mismas. Para resolver estos falsos negativos en el análisis por PCR se han ideado dos procedimientos: por un lado, utilizar mayor cantidad de ADN genómico y por otro, el realizar un mayor número de amplificaciones de la muestra original. Este recurso tiene el inconveniente de la pérdida de especificidad de la técnica por la eventual amplificación de secuencias no retrovíricas o contaminantes. Para ello se puso en marcha un sistema de amplificación en dos fases (doble PCR, *nested PCR*) que confiere mayor especificidad y sensibilidad a la técnica. Consiste en la realización sucesiva de dos PCR, utilizando en la segunda de ellas cebadores que copian un fragmento interno de la secuencia amplificada en la primera PCR. De esta forma se consigue aumentar la posibilidad de detectar una sola copia de provirus integrado en la muestra problema y, a la vez, mantener y aumentar la especificidad.

Una de las aplicaciones actuales es la cuantificación de la CV. La determinación cuantitativa del ARN por mililitro en el plasma refleja el número de partículas víricas circulantes, e indirectamente el número de CD4 infectados. Inicialmente la CV está relacionada con la primoinfección, luego es un predictor de la progresión de la enfermedad y un medio de monitorización del efecto de la terapia antirretroviral y, finalmente, de la muerte. El control de la terapia se verá reflejado a las 2-4 semanas del inicio o de cambios en la misma. Al principio la actividad será contra los viriones libres en el plasma y los CD4 recién infectados (99% del VIH en sangre). A largo plazo (meses) y en menor grado, refleja la actividad contra los macrófagos infectados, células CD4 en estado latente y otros compartimientos como las células foliculares dendríticas y los ganglios linfáticos.

Las primeras generaciones estaban limitadas a la detección entre 5000 a 10.000 copias por mililitro. Pero las nuevas generaciones permiten medir hasta 20

copias por mililitro. Se disponen de tres métodos de cuantificación de la CV: RT-PCR, NASBA y Branched-DNA. Existen pequeñas variaciones dependiendo del método utilizado y el derivado de la propia variabilidad individual, por ello resulta importante seguir al individuo con la misma técnica y aplicar el método más ultrasensible, muy útil en individuos infectados con escaso número de copias en plasma.

Desde que se estableció una asociación entre la detección de antígeno p24 y estado clínico de la infección por VIH, especialmente en la progresión a SIDA, la medición de antígeno p24 fue el único marcador vírico utilizado en la monitorización de la progresión de la infección VIH en las prácticas clínicas. Pero la antigenemia p24 no es un marcador exacto de la infección por VIH porque no siempre se puede detectar en pacientes con SIDA. Por otro lado la cuantificación de la CV es un marcador más sensible que la detección de antígeno p24 para intentar establecer una correlación con el estado clínico de la infección. Es muy importante cuantificar los niveles de viremia en suero o plasma de los pacientes sin tratamiento y hacer seguimientos cuando se comienza el mismo. Los pacientes infectados deben ser estudiados secuencialmente para aclarar cuándo se produce el cambio o la progresión clínica de asintomático con provirus latente a expresar un cambio transcripcional con detección y cuantificación de carga vírica en suero.

Causas de PCR positiva en sujetos seronegativos para VIH-1:

1. Período ventana antes de la seroconversión.
2. Contaminación de laboratorio<sup>358</sup>.
3. Secuencias exógenas de tipo retrovívico o próximas<sup>359</sup>.
4. Secuencias endógenas, retrovíricas o no.
5. Hipogammaglobulinemia<sup>360</sup>.
6. Infección por virus defectivos o incompletos<sup>361</sup>.
7. Infección por cepas poco o nada replicativas.
8. Serorreversión<sup>362</sup>.

## **XI.- TRATAMIENTO**

### **XIA.- CONSIDERACIONES PREVIAS AL TRATAMIENTO**

Aunque en 1987 existía ya una primera aproximación al tratamiento con un fármaco antiguo, la AZT<sup>363</sup>, el escepticismo marcó el inicio de la década de los años 90. Con el estudio Concorde se confirmó que la eficacia era temporal y que el tratamiento prolongado no evitaba la progresión del SIDA, ni redujo la mortalidad<sup>364</sup>.

Posteriormente, con la aparición de otros análogos de los nucleósidos, la didanosina (ddI) y la zalcitabina (ddC), se mejoró ligeramente la perspectiva de tratamiento de la infección. Los ensayos ACTG 155<sup>365</sup> y Delta<sup>366</sup> demostraron una mayor eficacia de la llamada terapia combinada o convergente, consistente en la

asociación de dos análogos de los nucleósidos (AZT + ddI ó AZT + ddC). La mejoría, sin embargo, no era importante ni duradera en los enfermos previamente tratados con monoterapia<sup>367</sup>.

Un mejor conocimiento de la enfermedad ha abierto nuevas esperanzas sobre su posible curación, lo que podemos concretar en<sup>368</sup>:

- a) Mejor conocimiento de la cinética replicativa del virus.
- b) El desarrollo de técnicas moleculares para cuantificar la viremia.
- c) El descubrimiento de nuevos fármacos más eficaces que los anteriormente disponibles.

El aspecto patogenético más novedoso es la constatación de que no existe una fase de latencia virológica, por el contrario, hay una intensa replicación viral en todos los estadios de la infección, y esta replicación viral es especialmente importante en los ganglios linfáticos (las células CD4 sólo representan un 2% del total). La vida media de los virus en plasma es de unas horas (alrededor de 6 horas), de lo que se deduce que billones de viriones son producidos y destruidos diariamente. Este ritmo puede ser 100 veces superior en los ganglios linfáticos, de tal manera que cada día se producen y destruyen varios billones de células CD4. La vida media de una célula infectada es de aproximadamente 1,6 días (una célula sana puede vivir entre 22 semanas y 3 años y medio). El tiempo total que pasa entre la liberación de viriones por una célula infectada, la infección de otra y la generación de nuevos viriones es de alrededor de 2,6 días. La mayoría de viriones plasmáticos, el 99%, derivan de células infectadas crónicamente, sobre todo macrófagos (más resistentes a la acción citopática del virus). La gran deplección de células CD4 y su regeneración hacen que el sistema inmunológico esté sometido a un tremendo estrés durante toda la enfermedad. En los estadios terminales se produce un colapso coincidiendo con la rotura de la malla protectora que forman las células foliculares-dendríticas en los ganglios linfáticos, lo que explica la enorme CV plasmática existente en esta fase de la enfermedad<sup>249</sup>.

Por otro lado, la medida de la CV por alguno de los tres métodos disponibles (RT-PCR, Branched-ADN y NASBA), puede ser de utilidad para realizar un pronóstico individualizado de cada paciente y valorar cuándo iniciar el tratamiento. Después de la fase aguda de la enfermedad, en la que la CV puede ser muy importante, el nivel de replicación se estabiliza, “punto de equilibrio” que se alcanza aproximadamente a los seis meses de la fase de infección aguda. El nivel oscila entre 10 y 100.000 copias de ARN viral por mililitro de plasma, y pueden permanecer estables durante meses o años<sup>249</sup>. Este punto de equilibrio individual va a suponer un excelente marcador pronóstico, aún mejor que la tasa de CD4 especialmente si esta es superior a 350/microlitro: de los pacientes con una CV inferior a las 500 copias/ml, sólo el 8% desarrollará la enfermedad a los 5 años; mientras que de aquellos con más de 35.000 copias/ml, lo hacen en el 62% de los casos. En este último grupo parece indudable que deberíamos iniciar el tratamiento tempranamente<sup>369</sup>.

El arsenal terapéutico del que disponemos se ha multiplicado en los últimos meses. La estavudina (d4T) y la lamivudina (3TC) son otros dos análogos similares

a los anteriores en eficacia y con posibilidades de utilización. Pero en la actualidad los fármacos estrella son los del grupo de los inhibidores de la proteasa (IP), que han demostrado ser más eficaces.

En pacientes no tratados, el uso de monoterapia logra reducir la CV en 0,5-0,6 log. Con tratamiento convergente (2 análogos de nucleósidos) la reducción es de 1 log; pero con los IP puede llegar a 2 log, y si se utilizan junto con análogos de los nucleósidos (tratamiento combinado divergente) puede llegar a 3 log e incluso a la supresión completa de la CV (medida en plasma por los métodos actualmente disponibles), tal como se ha demostrado con combinaciones de dos análogos de nucleósidos y un IP<sup>370</sup>.

La triple terapia puede conseguir que el virus del SIDA descienda hasta niveles indetectables (por debajo de 30-50 copias) tras unos meses de tratamiento. Aunque el virus desaparece de sangre circulante, se agazapa en los linfocitos y mantiene activa su capacidad de replicarse en circunstancias óptimas, es decir, con la retirada de la medicación. Durante el mantenimiento de la medicación no se producen mutaciones, y ésta, en principio, puede prolongarse indefinidamente. Con el advenimiento de los IP utilizados en regímenes combinados junto a los análogos de la RTI, se abre la posibilidad de convertir la infección del VIH en una enfermedad manejable e incluso crónica. Un ensayo llevado a cabo en el Centro de Investigación del SIDA de Aaron Diamond, de Nueva York, dirigido por David Ho, muestra que cuando se inicia una terapia combinada con altas dosis de fármacos, la CV en sangre del VIH se reduce en un 93-99% en las dos primeras semanas. La reducción se produce por la destrucción de los virus libres en sangre y de los que se alojan en las células del sistema inmune de vida corta. A continuación la reducción de la CV es más lenta a medida que los fármacos van destruyendo las células inmunitarias portadoras del VIH de vida más larga. Aunque con la terapia combinada, a los 6 meses de tratamiento se ha reducido el 99.9% de los virus de los ganglios. El virus quedaría latente dentro del ADN de las células infectadas, para volver a actuar en caso de que cese el tratamiento<sup>371</sup>.

Antes de tratar una infección causada por el VIH, se debe estadificar la enfermedad y disponer de una serie de datos clínicos y biológicos que serán muy valiosos no sólo para recomendar una terapia antirretrovírica particular, sino para indicar determinadas profilaxis. Es importante hacer una anamnesis (probable forma de adquisición de la infección, síntomas constitucionales) y una exploración física detallada (linfadenomegalias, lesiones cutáneas y mucosas, funduscopia y examen ginecológico). Asimismo, se solicitarán las pruebas analíticas y complementarias pertinentes.

Si la paciente tiene pareja con VIH, los métodos contraceptivos de barrera se deben seguir utilizando debido a que la exposición o infección repetida puede acelerar el curso de la enfermedad, y, además, existe el riesgo de transmitir cepas distintas de VIH, o bien otras enfermedades de contagio sexual.

Teniendo en cuenta todos estos datos debemos iniciar tratamiento en<sup>368</sup> los pacientes con síntomas o enfermedades asociados al VIH y en pacientes asintomáticos con menos de 500 CD4/microlitro (indicaciones ya establecidas). También en pacientes asintomáticos con CD4 mayor a 500, pero con CV de más de 30.000 copias/ml de ARN-VIH (tal vez con menor CV).

## XIB.-FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES

### XIB.1.-NUCLEÓSIDOS ANÁLOGOS DE LA RETROTRANSCRIPTASA INVERSA

Ciertos nucleósidos pueden bloquear la acción de la retrotranscriptasa inversa, la enzima que convierte el genoma del ARN del VIH en ADN de las células infectadas.

Todos los nucleósidos excepto la ddI son clasificados por la FDA como categoría C, la ddI está categorizada como B.

#### XIB.1.1) Azitimidina, AZT(ZDV, Zidovudina, Retrovir®)

Es el primer agente retroviral aprobado para el uso clínico. La AZT funcionaría como la culminación de la cadena de reacción de la transcriptasa inversa, siguiendo la fosforilación intracelular.

Fue aprobada por la FDA en 1987 a partir de los ensayos realizados con pacientes con SIDA<sup>363</sup>, y tras la realización de varios grupos de ensayos, se concluyó que la monoterapia con AZT debía ser iniciada cuando los niveles de CD4 disminuyeran por debajo de las 500 células/mm<sup>3</sup><sup>368,372</sup>.

A través de los resultados del estudio Concorde se sugirió que el beneficio obtenido del AZT no excedía de los 3 años<sup>364</sup>. La explicación a este fenómeno es el rápido desarrollo de resistencia viral a través de la mutación de la transcriptasa inversa<sup>373</sup>. Este hallazgo no apoya el que la administración del mismo sea con cuentas de CD4 mayores de 500 células/mm<sup>3</sup><sup>368</sup>.

La dosis empleada es de 100 mg/4 horas<sup>374</sup>, aunque muchos la simplifican por comodidad, en 200 mg/8 horas<sup>368</sup>.

Se debe monitorizar de forma cuidadosa la serie sanguínea<sup>374</sup>, principalmente cuando se administran concomitantemente otros agentes mielosupresores. Otros efectos secundarios son: la esteatosis hepática, fiebre, miopatía y reacciones de hipersensibilidad.

En estudios con roedores, dosis altas, continuas y prolongadas en el tiempo de AZT se han asociado al desarrollo de tumor epitelial escamoso no invasivo de vagina en el 3 al 12%<sup>375</sup>. En humanos es metabolizada totalmente, y la forma mayoritaria de excreción en la orina es el glucurónido. Por el contrario, en las ratas se elimina por orina altas concentraciones de AZT no metabolizada. El efecto tóxico crónico de la AZT sería el causante del desarrollo del tumor<sup>374</sup>.

Uno de los más importantes descubrimientos fue la demostración de que su uso tanto prenatal, como intraparto o postnatal podría reducir la transmisión materno fetal<sup>376</sup>. La AZT es bien tolerada en la gestación a las mismas dosis que en los adultos.

Estudios en animales sobre el potencial toxicológico (aberraciones cromosómicas) no han demostrado efectos adversos<sup>377</sup>. La administración de AZT

en ratones en etapas precoces de la gestación está asociada con toxicidad embrionaria y fetal. Sin embargo, administrado durante o después del segundo trimestre no han demostrado efectos en el feto<sup>378,379</sup>. Como efectos secundarios en los fetos de macacos, cuyas madres han seguido tratamiento con AZT, se ha registrado la aparición de alteraciones visuales, anemia, déficit en el crecimiento; pero estos efectos desaparecen con el tiempo<sup>380</sup>.

Aunque en la mayoría de los estudios donde se administró AZT en animales gestantes no se demostró teratogenicidad, en un ensayo llevado a cabo por *Wellcome*, el 12% de los fetos de ratas gestantes a las que se les administró dosis tóxicas de AZT (el equivalente a 50 veces la cantidad recomendada en la clínica diaria) han desarrollado malformaciones y anomalías esqueléticas<sup>381</sup>.

En humanos no se ha revelado un incremento de malformaciones con el uso prenatal de AZT<sup>376</sup>. Por otro lado en los resultados obtenidos a partir del protocolo ACTG 076 y los hallazgos procedentes de la conjunción entre la Fundación Wellcome con el CDC), no se encontró un mayor número de defectos a las tasas esperadas<sup>382</sup>.

Tanto la AZT como el ddI y ddC atraviesan la placenta<sup>383</sup> y consiguen concentraciones en la sangre del cordón umbilical similares a las observadas en la sangre materna durante el parto.

### XIB.1.2) Didanosina, ddI (Videx®)

La FDA ha aprobado la ddI como tratamiento en VIH avanzados y para uso en pacientes con terapia previa prolongada, por intolerancia o deterioro clínico significativo o deterioro inmunológico durante la administración de AZT.

La ddI requiere de un medio alcalino para su absorción y por ello la formulación comercial incluye un tampón antiácido de magnesio-aluminio. Debería tomarse con el estómago vacío para prevenir la degradación gástrica. La eliminación es por vía renal.

Se administra de acuerdo al peso del paciente (mayor o igual a 60 kg, 200 mg dos veces al día; inferior a 60 kg, 125 mg dos veces al día)<sup>384</sup>. Los efectos secundarios más importantes son la pancreatitis, la neuropatía periférica y la diarrea, este último por el tampón<sup>385,386</sup>.

La ddI logra mayor efectividad en pacientes con enfermedad avanzada, incluso cuando éstos habían recibido previamente terapia con AZT entre 8 y 16 semanas<sup>387</sup>.

Otros estudios sugieren que el ddI podría beneficiar a pacientes que reciben AZT, particularmente cuando aparecen signos de deterioro clínico<sup>388</sup>.

La información disponible acerca del uso de ddI durante la gestación es limitada. Se ha visto que este nucleósido es capaz de atravesar la placenta<sup>389</sup>.

La administración de ddI, de acuerdo con los Laboratorios Bristol, *Evansville*, no produce efectos adversos en la fertilidad o efectos teratogénicos en ratas y conejos con dosis hasta doce o catorce veces la dosis normal en humanos.

### XIB.1.3) Zalcitabina, ddC (Vihid®)

La zalcitabina ha sido aprobada como fármaco de elección, como monoterapia, en pacientes con infección por VIH avanzada o intolerancia o progresión de la enfermedad con AZT. También se puede usar en combinación con la AZT en pacientes seleccionados cuyas cuentas de CD4 sean inferiores a las 300 células/mm<sup>3</sup><sup>390</sup>.

La dosis recomendada de ddC es de 0.75 mg vía oral cada 8 horas. El principal efecto secundario es la neuropatía periférica, la cual es similar a la ocasionada por el ddI<sup>385</sup>, y parece estar relacionada con la dosis.

Una de las causas más importantes de disfunción pancreática en los pacientes VIH es la ocasionada por fármacos como la ddC, ddI o pentamidina<sup>386</sup>.

Estudios realizados con monas gestantes encontraron que la ddC llegaba a niveles del 50% de la dosis total en el feto, concentrándose principalmente en el riñón fetal y sólo una pequeña proporción (20% de la concentración sanguínea fetal) alcanzaba el cerebro<sup>391</sup>.

Se han registrado efectos teratogénicos en ratas a dosis tan altas como 2000 mg/kg/día. El desarrollo de toxicidad se ha visto con dosis de 1000 mg/kg/día, y consiste en disminución de peso fetal y defectos esqueléticos. Estos efectos disminuyen al disminuir las dosis, y desaparecen con dosis inferiores a 200 ó 400 mg/kg/día<sup>392</sup>.

Altas dosis de ddC, 100 veces las concentraciones terapéuticas, se han asociado con el desarrollo de linfomas tímicos en ratas por el efecto citotóxico sobre los timocitos<sup>393</sup>.

Estudios no publicados, realizados por los Laboratorios Roche, indican que no existe daño de la fertilidad en ratas con concentraciones plasmáticas mayores a 200 veces las alcanzadas por los humanos.

### XIB.1.4) Estavudina, d4T (Zerit®)

Se usa en aquellas pacientes con VIH avanzado, intolerancia al AZT, ddI y ddC o con un significativo deterioro clínico e inmunológico con dichas terapias. La dosis recomendada para pacientes que pesan más de 60 kg es 40 mg oral dos veces al día; para pacientes con menos de 60 kg, 30 mg oral dos veces al día. Su aclaramiento es vía renal, pero la metabolización de la droga no es conocida totalmente. El principal efecto secundario es la neuropatía periférica<sup>385,394</sup>.

La monoterapia con d4T en aquellos pacientes que han usado el AZT se asocia con una elevación de la cuenta de CD4<sup>394</sup>. El uso de d4T parece menos probable que desarrolle resistencias, en comparación a otras monoterapias con cualquiera de los análogos disponibles actualmente<sup>395</sup>. La combinación de d4T y ddI

tiene una potente actividad antiviral, aunque la neuropatía podría ser un problema<sup>396</sup>.

La exposición de embriones a concentraciones de 100 micromolar inhibe la progresión al estado de blastocisto<sup>397</sup>.

Este fármaco no daña la fertilidad en ratas con dosis superiores 200 veces la dosis empleada en humanos. Los estudios del efecto teratógeno en ratas y conejos que reciben 400 y 183 veces las concentraciones humanas no han mostrado un incremento de defectos al nacimiento. A dosis máximas en ratas existía un pequeño incremento en la mortalidad neonatal y retrasos de osificación esquelética.

### XIB.1.5) Lamivudina, 3TC (Epivir®)

Tiene una potente actividad antiviral frente al VIH-1, incluido aquellos casos con resistencia frente a la AZT<sup>398</sup>. También activo contra la hepatitis B<sup>399</sup>. Es un débil inhibidor de las polimerasas celulares humanas, y tiene un perfil favorable de efectos secundarios cuando lo comparamos con los otros agentes antirretrovirales disponibles.

La lamivudina es rápidamente absorbida después de la administración oral, y es altamente biodisponible (80%), con una vida media de 2 a 4 horas. Se administra 150 mg dos veces al día. Los efectos secundarios incluyen diarrea, cefaleas, náuseas, dolor abdominal; todos transitorios<sup>400</sup>. El fármaco se elimina por vía renal.

Ensayos realizados en ratas y conejos gestantes a dosis 130 y 160 veces superiores a las administradas a los humanos, han demostrado que no existe evidencia de daño fetal. Por el contrario, se han detectado algunos casos de letalidad en etapas precoces del embrión en conejos, con dosis similares a las usadas en humanos. Este fenómeno no ocurre en las ratas, incluso con dosis hasta 130 veces superiores a las utilizadas en humanos.

El 3TC es capaz de atravesar la placenta y ser secretada por la leche materna<sup>401</sup>.

En la primera fase de un estudio realizado en Sudáfrica con 20 mujeres gestantes<sup>402</sup>, en el cual se evaluaba la seguridad y farmacocinética del 3TC como monoterapia y en combinación con la AZT, comenzó su administración a partir de las 38 semanas de gestación, durante el parto y hasta una semana postparto. El fármaco era bien tolerado en las mujeres a las dosis que se administran a los adultos, 150 mg vía oral dos veces al día, con una farmacocinética igual que en las no embarazadas. Tampoco se observaron interacciones con la AZT. El aclaramiento del 3TC en niños de una semana de edad era más prolongado si se comparaba con otra población de mayor edad (0.35 l/kg/hora comparado a 0.64-1.1 l/kg/hora). No existen datos en recién nacidos de 2 a 6 semanas de edad, ni respecto a cuándo el aclaramiento se aproxima al de los niños de mayor edad. Basándonos en esto, la lamivudina se administra oralmente en dosis de 150 mg vía oral dos veces al día en mujeres VIH; y 2 mg por kg de peso dos veces al día en neonatos (mitad de la dosis recomendada en la infancia).

#### XIB.1.6) Abacavir (Ziagen®)

Fármaco aceptado por la FDA dentro del grupo C, para el tratamiento del VIH. La dosis administrada es de 300 mg al día. Su eliminación es por vía renal. Y es capaz de atravesar la placenta. Los principales efectos secundarios son la hipersensibilidad, fiebre, alteraciones gastrointestinales y rash cutáneo.

Entre los efectos teratogénicos obtenidos de estudios en ratas a dosis muy superiores a las habitualmente aceptadas, son la anasarca y las malformaciones esqueléticas. Los ensayos para determinar la carcinogenicidad a largo plazo todavía no han sido completados.

#### XIB.2.-ANÁLOGOS NO NUCLEÓSIDOS DE LA RETROTRANSCRIPTASA INVERSA

La FDA ha aprobado dos fármacos, la nevirapina y la delavirdina. Se conoce el uso de la nevirapina en la práctica clínica desde junio de 1996, y su principal efecto secundario es la aparición de un rash grave<sup>403</sup>. En la primera fase de un estudio realizado en los Estados Unidos evaluaron la seguridad y la farmacocinética de la nevirapina en 7 mujeres VIH-1 y sus hijos. La nevirapina se administró de forma oral al comienzo del parto, 200 mg vía oral en una única dosis, y también como única dosis de 2 mg por kg de peso, a los dos o tres días de edad de sus niños. Esta fue bien tolerada por la madre, atravesando la placenta y alcanzando concentraciones sanguíneas en el feto similares a la madre. No se observaron efectos adversos a corto plazo tanto en las madres como en los neonatos. La eliminación de la nevirapina era prolongada si se comparaba con mujeres no gestantes (66 frente a 45 horas). También la vida media fue prolongada en neonatos, si estos se comparaban con niños de mayor edad (36.8 horas frente a 24.8). Una única dosis en neonatos a los 2 ó 3 días de vida, en aquellos cuyas madres recibieron nevirapina durante el trabajo de parto, mantuvo los niveles con actividad antiviral durante la primera semana de vida<sup>404</sup>. Al igual que la AZT y la lamivudina, también puede ser detectada en la leche materna<sup>301</sup>.

La delavirdina en estudios de postcomercialización fueron detectados 7 embarazos no planificados: tres fueron embarazos ectópicos, tres recién nacidos sanos y uno nació prematuramente con un pequeño defecto en el tabique interventricular<sup>405</sup>.

Ambos fármacos se han asociado a daño en la fertilidad de las ratas sometidas a altas dosis. La nevirapina y la delavirdina se clasifican por la FDA como categoría C.

Efavirenz (Sustiva®) es un nuevo inhibidor aprobado<sup>406</sup>. Se está efectuando un estudio de toxicidad en monas *cinomolgus* preñadas en las que se administran 30 mg/kg dos veces al día desde el día 20 al 150 de gestación. Es de esperar que esta dosis origine concentraciones plasmáticas aproximadas a las conseguidas en seres

humanos tratados con 600 mg/día. Se han registrado las siguientes malformaciones macroscópicas: anencefalia y anoftalmía unilateral en un feto, microftalmía en otro, y paladar hendido en un tercero<sup>405</sup>. Así mismo el Amprenavir (Agenerase®) es otro de los recientemente aceptados, hasta el momento no se han demostrado efectos teratogénicos en los ensayos con animales, pero queda aún por demostrar su efecto carcinogénico a largo plazo.

### XIB.3.-INHIBIDORES DE LA PROTEASA

Son la segunda clase de fármacos disponibles para el tratamiento de la infección por VIH. Estos agentes bloquean la aspartatil proteasa, enzima viral responsable de la formación de proteínas virales maduras<sup>407</sup>. Son probablemente los más potentes antirretrovirales desarrollados hasta la fecha. A pesar de su prometedora actividad, el uso de inhibidores de las proteasas es complicado por problemas con la biodisponibilidad, interacciones farmacológicas, toxicidad, dificultades en su manufactura y distribución, rápido desarrollo de resistencias y coste. Entre ellos se incluyen el saquinavir, ritonavir, indinavir y nelfinavir.

La administración de cualquiera de los IP actualmente disponibles se ha asociado con diabetes mellitus de inicio reciente, hiperglicemia o una exacerbación de una diabetes mellitus previa en pacientes VIH<sup>408</sup>.

#### XIB.3.1) Saquinavir (Invirase®)

Fue el primero que se llevó al uso clínico. La absorción aumenta hasta siete veces si se toma con una comida rica en grasas. La dosis recomendada es de 600 mg oral tres veces al día. Diarrea, malestar abdominal y náuseas representan los más importantes efectos secundarios registrados<sup>409</sup>. Este fármaco es metabolizado en el hígado a través del citocromo P450, así que aquellos fármacos que sean metabolizados por esta vía pueden interaccionar de forma negativa con el saquinavir. La FDA ha reservado su uso para combinarlo con nucleósidos análogos<sup>409</sup>.

El saquinavir es un fármaco de categoría B. No se han detectado daños cromosómicos en ratones in vivo tras su uso. La fertilidad y reproductibilidad no están afectadas en ratas expuestas a dosis hasta cinco veces a las dosis recomendadas en humanos. Tampoco han demostrado embriotoxicidad o teratogenicidad en ratas expuestas a niveles cinco veces superiores a la de los humanos, o en conejos a dosis cuatro veces superiores. Ensayos realizados con ratas indican que la exposición al saquinavir al final de la gestación y a través de la lactancia, con concentraciones plasmáticas cinco veces superiores a las dosis recomendadas a los humanos, no tiene efectos en la supervivencia o crecimiento y desarrollo de sus crías.

El saquinavir, al igual que la ddI, delavirdina, indinavir, ritonavir y d4T, se excreta en la leche de ratas gestantes. En cuanto a su capacidad para atravesar la placenta es mínima, en ensayos realizados con ratas y conejos<sup>405</sup>.

### XIB.3.2) Ritonavir (Norvir®)

Es un fármaco clasificado dentro de la categoría B por la FDA. El ritonavir se absorbe también de forma oral, la dosis recomendada es de 600 mg, vía oral, dos veces al día. La biodisponibilidad aumenta con la comida<sup>409</sup>. Es un potente fármaco, capaz de inhibir la replicación viral, suprimir la CV sustancialmente e incrementar el número de CD4 de 100 hasta 200 células<sup>410</sup>. En estudios a doble ciego realizados en pacientes con cuentas de CD4 inferiores a 100/mm<sup>3</sup> y al menos 9 meses de terapia antirretroviral, la progresión a la muerte u otros marcadores de actividad de enfermedad estaban significativamente reducidos en el grupo que recibía ritonavir<sup>411</sup>.

El malestar gastrointestinal es el problema más importante, y disminuye cuando la dosis, que se aumenta progresivamente, alcanza los valores adecuados. También ocasiona parestesias periorales<sup>409,410</sup>.

El ritonavir es metabolizado por el hígado; tiene una alta afinidad por el sistema del citocromo P450, por lo que aumenta los niveles de aquellas drogas que utilicen este enzima. Tanto el ritonavir no metabolizado como sus metabolitos pueden aparecer en orina<sup>409</sup>. Además, el ritonavir presenta un paso transplacentario bajo<sup>405</sup>.

Presenta un pequeño incremento en la incidencia de criptorquidea (22%) a dosis terapéuticas<sup>412</sup>. El desarrollo de toxicidad observada en ratas ocurre con exposición materna equivalente al 30% de la dosis terapéutica (disminución del peso fetal, retraso de osificación, costillas ondulantes, agrandamiento de las fontanelas, etc.). En conejos, el desarrollo de toxicidad ocurre con dosis materna equivalente a 1.8 veces la dosis terapéutica (disminución de la talla, bajo peso fetal, y disminución de la viabilidad).

### XIB.3.3) Indinavir (Crixivan®)

El indinavir está categorizado como clase C. La dosis recomendada es de 800 mg cada 8 horas, debiendo administrarse en ayunas. La metabolización es predominantemente hepática, relacionado también con el sistema P450. Se excreta por el tracto gastrointestinal<sup>409</sup>.

En un ensayo administrando indinavir solo o en combinación con AZT, se obtuvo un aumento en el recuento de CD4 y una disminución del ARN viral<sup>413</sup>.

Por otro lado, en un estudio randomizado donde los pacientes recibieron triple terapia (AZT, 3TC e indinavir) se consiguió un gran efecto sobre la CV. Más del 85% de los sujetos que recibieron la triple terapia alcanzaron la supresión de la CV, con niveles tres veces más bajos a las 24 semanas de la terapia<sup>414</sup>.

Ensayos realizados con ratas y conejos no revelan la existencia de teratogenicidad, como tampoco se han observado alteraciones en cuanto a supervivencia fetal o embrionaria. Sólo se ha registrado un incremento en la incidencia de costillas supernumerarias y cervicales en ratones<sup>415</sup>. En conejos no aparecen alteraciones de tipo visceral o esquelético.

El paso transplacentario es positivo para conejos y ratas, en humanos es desconocido<sup>405</sup>.

El indinavir se asocia con poca frecuencia a efectos secundarios en humanos (hiperbilirrubinemia y litiasis renal, este último es el efecto secundario más importante)<sup>409</sup>, pero que pueden ser problemáticos para el recién nacido si el pasaje transplacentario ocurre y el fármaco se administra próximo al parto. Debido a la inmadurez de las enzimas metabólicas hepáticas, el fármaco podría tener una vida media prolongada y exacerbar la hiperbilirrubinemia fisiológica observada en neonatos. Adicionalmente, debido a la inmadurez de la función renal y la incapacidad del neonato para asegurar de forma voluntaria una adecuada hidratación, concentraciones altas de fármaco y/o retraso en la eliminación podrían determinar en un alto riesgo de cristalización del fármaco y desarrollo de litiasis renal, como en los adultos. Estos efectos sólo son teóricos y todavía no han sido registrados.

### XIB.3.4) Nelfinavir (Viracept®)

Es la proteasa más reciente en el uso clínico. Es de categoría B según la FDA. Afecta tanto al ARN viral como a los niveles CD4, como cualquier otro inhibidor de las proteasas<sup>409</sup>. La dosis a administrar es de 250 mg tres veces al día y deben tomarse con una pequeña cantidad de comida. Presenta efectos gastrointestinales como efecto secundario más frecuente<sup>409</sup>.

Los estudios realizados con ratas y conejos gestantes han mostrado resultados comparables a los humanos, sin toxicidad materno o fetal<sup>405</sup>.

## XIC.-TERAPIA ANTIRRETROVIRAL DURANTE LA GESTACION

Las recomendaciones de tratamiento para mujeres gestantes VIH han sido basadas en la creencia de que las terapias de beneficio conocido para las mujeres no deberían detenerse durante el embarazo, a menos que los efectos adversos sobre la madre, feto o RN sean superiores a los beneficios de la madre<sup>416</sup>. Así, dada la ausencia de riesgo demostrado y la evidencia precisa de la ventaja terapéutica, los principios para la óptima terapia antirretroviral en gestantes infectadas deberían ser los mismos que en aquellas que no lo están. Sin embargo, debemos tener en cuenta que el impacto potencial de tales terapias sobre el feto y los niños no es del todo conocido.

El cuidado de la gestante portadora VIH-1 debería implicar la colaboración entre el especialista VIH, su obstetra y la propia mujer.

Dentro de la evaluación inicial, en mujeres gestantes portadoras, se debería incluir una valoración de:

- a) el grado de inmunodeficiencia existente, determinado por la cuenta de CD4;

- b) el riesgo de progresión de la enfermedad, determinado por el nivel de ARN en plasma;
- c) historia previa o actual de terapia antirretroviral;
- d) la edad gestacional.

La elección final es responsabilidad de la mujer. La decisión de no aceptar el tratamiento con AZT u otras drogas no debería considerarse una acción punitiva o de rechazo de cuidados. Por el contrario, no debería denegarse el uso de AZT a las mujeres que deseen minimizar la exposición del feto a terapias antirretrovirales y que decidan escoger sólo el AZT para minimizar el riesgo de transmisión perinatal, después de recibir consejos apropiados.

Por otro lado, aquellas mujeres que no reciben tratamiento antirretroviral, y que se encuentran en el primer trimestre de embarazo, pueden desear retrasar el inicio del tratamiento hasta la semana 10-12 de la gestación, debido a que es en este período de organogénesis en el que el embrión es más susceptible a sufrir los efectos teratogénicos potenciales de los fármacos.

A largo plazo, el plan de tratamiento debería ser desarrollado con la paciente y discutir con la misma la importancia de la adhesión a la terapia.

Sin embargo, las recomendaciones en la elección de la terapia antirretroviral para el tratamiento de mujeres embarazadas deben someterse a algunas consideraciones como las dosis requeridas debido a los cambios fisiológicos asociados al embarazo y los efectos potenciales de los fármacos sobre el feto y el recién nacido.

Los cambios fisiológicos que ocurren durante el embarazo podrían afectar la cinética de la absorción de los fármacos, la distribución, la biotransformación y la eliminación, con lo cual se verían afectadas las dosis requeridas. Durante el embarazo el tiempo de tránsito gastrointestinal se prolonga; la cantidad de agua corporal y grasa se incrementa, lo que se acompaña de un aumento del gasto cardíaco, ventilación y aumento del flujo renal y hepático; decrece la concentración de proteínas plasmáticas; aumenta la reabsorción renal de sodio; y existen cambios en las vías metabólicas de las enzimas hepáticas. El paso de fármacos a través de la placenta, la distribución de los fármacos en el embrión/feto y placenta y la biotransformación del fármaco por el feto y la placenta, así como la eliminación del mismo, pueden también afectar a la farmacocinética en la mujer embarazada.

Finalmente, el uso de estos fármacos durante la gestación y sus efectos sobre el feto y el recién nacido incluyen el potencial teratogénico, mutagénico o carcinogénico, y la farmacocinética y toxicidad del paso a través de la barrera placentaria. El daño potencial al feto por la ingestión materna de los fármacos, depende no solamente de la droga en sí misma, sino también de: la dosis, la edad gestacional en el momento de la exposición, la duración de la exposición, la interacción con otros agentes a que esté sometido el feto y el mapa genético de la madre y el feto.

Actualmente los datos disponibles sobre la farmacocinética y la seguridad de los fármacos antirretrovirales durante la gestación son mínimos. En la ausencia de datos, la elección de los mismos debe ser individualizada.

Existen datos obtenidos *in vitro* y ensayos con animales, test de *screening in vivo*, con el fin de determinar el efecto carcinogénico, mutagenicidad y efectos reproductivos y teratogénicos. Es importante reconocer que el valor predictivo positivo de tales pruebas en humanos se desconoce. Por ejemplo, de aproximadamente 1200 efectos teratogénicos en animales, solamente 30 se conocen en humanos<sup>417</sup>. Además de los agentes antirretrovirales, muchas drogas que se usan habitualmente para tratar procesos dentro de la clínica del VIH, podrían tener un hallazgo positivo dentro de estos tests de *screening*. Por ejemplo, el aciclovir es un agente carcinogénico *in vitro*, en ensayos de investigación se asocia con algunas anomalías fetales en ratas, que hasta ahora, no han sido registrados en humanos<sup>418</sup>.

En la tabla 7 quedan recogidos los fármacos antirretrovirales más conocidos, la dosis de administración, los principales efectos secundarios y su capacidad para atravesar la placenta.

### XIC.1.-ENSAYO ACTG 076

En febrero de 1994 el Protocolo ACTG 076 demostró que el tratamiento con AZT puede reducir el riesgo de transmisión de la infección por VIH-1 en aproximadamente un 70%<sup>376</sup>. El ensayo ACTG 076 es un estudio randomizado en fase III controlado con placebo diseñado para evaluar la eficacia, seguridad y tolerancia de la zidovudina en la prevención de la transmisión materno-fetal. Fue llevado a cabo por el Grupo de Ensayos Clínicos sobre el SIDA en Pediatría (ACTG) del Instituto Nacional de Alergología y Enfermedades Infecciosas (NIAID) en colaboración con el Instituto Nacional para la Salud del Niño y Desarrollo Humano (NICHD) de los Estados Unidos y por el Instituto Nacional de la Salud y de la Investigación Médica (INSERM) y la Agencia Nacional de Investigación sobre el SIDA (ANRS) de Francia. Participaron en el estudio 50 hospitales de Estados Unidos y 9 de Francia. Las participantes seleccionadas para el estudio eran 477 mujeres embarazadas e infectadas por VIH que no habían recibido tratamiento antirretroviral durante el embarazo, no tenían indicaciones clínicas para tratamiento *antepartum* a juicio de responsables médicos y tenían recuentos de células CD4 superiores a 500/mm<sup>3</sup>.

Puede iniciarse desde la 14ª semana un régimen vía oral, para pasar a administrarse vía intravenosa durante el trabajo de parto, y vía oral al RN durante las primeras seis semanas.

En agosto de 1994 el Servicio Público de Salud de los Estados Unidos (USPHS) recomendó su uso<sup>419</sup>. A partir de que estos resultados estuvieron disponibles, otros estudios epidemiológicos demostraron una disminución dramática en la transmisión perinatal tras la incorporación del régimen del ACTG 076 en la práctica clínica general<sup>150,218,258,420</sup>. La tabla 6 describe el esquema de tratamiento.

ESTRATIFICACIÓN				
		MADRE	PARTO	NIÑO
Gestación 14-26 SEMANAS >26 SEMANAS	RAN DO MIZA CIÓN	Retrovir Vía oral 100 mg	Retrovir intravenoso 2mg/kg+1mg/kg/h	Retrovir jarabe vía oral 2mg/Kg
		5 veces al día hasta término	Infusión continua	4 veces al día 6 semanas
		Placebo	Placebo	Placebo

**Tabla 6.-** Esquema del ensayo ACTG 076.

**XIC.2.-AZT: MECANISMO DE ACCION, DOSIS Y RESISTENCIAS EN LA QUIMIOPROFILAXIS DE LA TRANSMISIÓN PERINATAL**

El mecanismo por el cual la AZT reduce la transmisión en el ACTG 076 no está totalmente definido. El efecto de la AZT sobre el ARN-VIH-1 materno no es razón suficiente para explicar la eficacia de la AZT en la reducción de la transmisión, alcanzando la posibilidad de la profilaxis preexposición del feto/niño. Así, el paso del fármaco a través de la placenta sería un importante medio de prevención de la transmisión. Adicionalmente, en estudios de perfusión placentaria, se ha visto que es metabolizada a trifosfato activo dentro de la placenta<sup>421</sup>, esto podría suministrar protección contra la transmisión intraútero. Este fenómeno podría ser único para el AZT, como metabolito activo trifosfatado dentro de la placenta, no habiéndose observado en otros análogos nucleósidos que han sido estudiados de este modo (ddI y ddC)<sup>383,422</sup>.

La dosis prenatal del régimen ACTG 076 (100 mg /5 veces al día, vía oral), se seleccionó tomando como base la dosis estándar de AZT en adultos.

Estudios recientes han demostrado que la administración de AZT tres veces al día mantiene los niveles intracelulares de AZT trifosfato comparables a los observados con dosis más frecuentes o de menor cantidad<sup>423</sup>. Además, la respuesta clínica es comparable con la dosis administrada dos veces al día, como se demuestran en algunos ensayos clínicos<sup>423,424,425</sup>. Así, la dosis actual de AZT en los adultos es de 200 mg tres veces al día o 300 mg dos veces al día, siendo la forma de administración que goza de mayor aceptación y seguimiento. Tanto el aclaramiento como la vida media del fármaco es similar en la mujer gestante y en la no gestante, mientras que en el recién nacido la vida media es 10 veces superior. Las dosis administradas parecen seguras, bien toleradas y con escasos efectos secundarios<sup>426</sup>.

La dosis de AZT recomendada en los niños es derivada del estudio farmacocinético realizado previamente<sup>427</sup>. El AZT es primariamente aclarado a través de la glucuronidación hepática a un metabolito inactivo. El sistema enzimático de glucuronidación es inmaduro en los neonatos, con lo que la vida media y el aclaramiento son mayores que en otros niños de mayor edad (vida media: 3,1 vs 1,9 horas; Aclaramiento: 10,9 vs 19,0 ml por minuto por kg de peso). Como los niños prematuros tienen incluso mayor inmadurez en la función metabólica hepática que los niños a término, es esperable aún mayor prolongación en el aclaramiento. En

un pequeño estudio farmacocinético con 15 niños prematuros (28 a 33 semanas de gestación) que recibieron diferentes tipos de regímenes, la vida media del AZT calculada fue de 7,3 horas y el aclaramiento de 2,3 ml/min/kg durante los primeros diez días de vida<sup>428</sup>. La dosis apropiada de AZT para los prematuros no está bien definida, aunque está siendo evaluada en un ensayo clínico con prematuros de menos de 34 semanas de gestación. La dosis en estudio para las dos primeras semanas de vida es de 1.5 mg/kg/12 horas vía oral o intravenosa; entre la 2ª y la 6ª semana, las dosis se incrementan a 2 mg/kg/8 horas.

Debido a que las dosis subterapéuticas podrían estar asociadas a la posibilidad de desarrollo de resistencia a los fármacos, las mujeres deben temporalmente discontinuar la terapia si aparecen problemas relacionados a la gestación, como la hiperemesis, y no debería reinstaurarse hasta que transcurra el tiempo suficiente para asegurar que los fármacos van a ser bien tolerados. Para evitar las resistencias o la interrupción temporal durante el embarazo, todos los fármacos deberían ser interrumpidos y reintroducidos de forma simultánea.

El desarrollo de resistencia del virus a la AZT no se asocia necesariamente con fallo a la prevención de la transmisión<sup>429</sup>. En evaluaciones previas de la resistencia genotípica en mujeres (del grupo ACTG 076), la resistencia del virus a la AZT estaba presente en el momento del parto en sólo una de cada siete mujeres que habían recibido AZT. La mujer que desarrolló resistencia genotípica del virus a la AZT no transmitió el VIH-1 a su hijo. En un estudio realizado con 96 mujeres seropositivas que recibían AZT, ninguna desarrolló un *alto nivel* de resistencia y sólo el 6.8% desarrolló un *bajo nivel* de resistencia. Sin embargo, la población de mujeres del ACTG 076 tenían niveles bajos de ARN-VIH-1, y el riesgo de inducción de resistencia con la administración de AZT era mucho menor de lo que se preveía encontrar en la población de mujeres con enfermedad más avanzada o altos niveles de replicación viral<sup>429</sup>. Sin embargo, en una cohorte de mujeres con enfermedad avanzada y que habían recibido previamente AZT durante 5 años, la prevalencia de resistencia fue de 25%, la presencia de la misma se asoció con transmisión perinatal<sup>430</sup>. En otro estudio realizado con 62 mujeres VIH sólo un 10% desarrolló un *alto nivel* de resistencia, pero ninguna transmitió el virus a su hijo a pesar de que sólo recibió AZT<sup>431</sup>.

### XIC.3.-RESULTADOS DEL ENSAYO ACTG 076

En agosto de 1994 el servicio público de salud de los Estados Unidos publicó las recomendaciones para la reducción de la transmisión perinatal mediante el uso de la AZT<sup>376</sup> y la realización, con el consentimiento de la gestante, de test de diagnóstico prenatal<sup>432</sup>.

Los resultados iniciales registrados dentro del programa ACTG 076, obtuvo una tasa estimada de transmisión perinatal de Kaplan-Meier en niños que recibieron placebo de 25.5%, comparada al 8.3% de los que recibieron AZT, esto corresponde a una reducción del 66% del riesgo de transmisión<sup>373</sup>. Por otro lado, no se ha observado un incremento de anomalías congénitas comparado a la

población general en el ACTG 076<sup>376</sup> o en los datos del Registro de Embarazos con Antirretrovirales<sup>433</sup>.

Seguidos los niños no infectados a través del ACTG 076 hasta una edad media de 3.9 años no se han encontrado diferencias en el crecimiento, desarrollo neurológico o estado inmunológico entre los hijos de madres que recibieron AZT comparados con aquellos cuyas madres recibieron placebo<sup>434</sup>. Tampoco han sido observados procesos malignos a corto plazo (hasta los 6 años de edad), protocolo 734 del ACTG 076<sup>435</sup>.

El efecto temporal de la administración de AZT durante el embarazo reduce la transmisión perinatal. Datos preliminares de un análisis provisional del ACTG, protocolo 288 (un estudio de mujeres dentro del ACTG 076 a lo largo de 3 años postparto), indican que no existen diferencias significativas a los 18 meses postparto en el recuento de linfocitos CD4 o estado clínico entre aquellas mujeres que recibieron AZT frente a las que recibieron placebo<sup>436</sup>.

La eficacia de la quimioprofilaxis con AZT en la reducción de transmisión, dentro de la población de mujeres infectadas con características diferentes a las de aquellas del ACTG, ha sido evaluada en otro protocolo perinatal (ACTG 185), así como su historia natural. ACTG 185 evaluó la combinación de una tercera parte del régimen de AZT con inmunización pasiva por la inmunoglobulina hiperinmune VIH-1 (VIH-Ig, inmunoglobulina que contiene altos niveles de anticuerpos para el VIH-1) en gestantes con estado de enfermedad avanzada, y que habían recibido previamente terapia antirretroviral: el 22% tenían un recuento de CD4 <200/mm<sup>3</sup> y el 24% recibieron la AZT previa al embarazo, muchas por largo período de tiempo. Todas las mujeres y sus hijos recibieron la tercera parte del régimen de AZT y, de forma randomizada, unas recibieron el VIH-Ig y otra inmunoglobulina intravenosa estándar (IV-Ig). Como se sabe, enfermedad avanzada y bajo recuento en CD4 están asociados a mayor riesgo de transmisión perinatal, lo que se tomaba como hipótesis, y a pesar de la quimioprofilaxis con AZT, la tasa de transmisión debía ser del 11-15%. Sin embargo, en el primer análisis provisional en el grupo de terapia combinada, la tasa de transmisión fue sólo del 4.8%, y no fue significativamente diferente por la duración del uso de la AZT o cualquiera de las dos inmunoglobulinas<sup>437</sup>.

Un ensayo realizado en Connecticut, detectó que el 39% de las mujeres con recuento de CD4 <200/mm<sup>3</sup> y que no recibieron AZT durante el embarazo tuvieron niños infectados, frente al 4% de las mujeres con condiciones similares a las que se administró AZT<sup>438</sup>. En Carolina del Norte la transmisión perinatal del VIH-1 ha disminuido del 21% en 1993 al 6% a principios de 1996; y en 1997 solamente un 3% de mujeres que recibieron tratamiento con AZT tuvieron niños infectados<sup>439</sup>. En un estudio multicéntrico donde se siguió a 556 madres y a sus hijos, la transmisión disminuyó de un 19% en los niños nacidos antes de marzo de 1994, hasta el 8% en los nacidos después de marzo de 1994. Esta disminución se observó sin considerar el recuento de linfocitos CD4, la duración de la rotura de membranas, el modo de terminar el parto, la edad gestacional y el abuso de drogas<sup>420</sup>.

#### XIC.4.- TRANSMISIÓN MATERNO-FETAL Y NÚMERO DE COPIAS DE ARN VIH-1

La clara correlación entre los niveles de ARN VIH-1 y el riesgo de progresión de enfermedad en adultos sugiere que el ARN VIH-1 debería ser monitorizado durante la gestación al menos tan a menudo como se recomienda para adultos (ejemplo: cada 3 ó 4 meses, o aproximadamente en cada trimestre). La frecuencia incrementada de análisis que se necesita durante la gestación no está clara. Aunque no existen datos convincentes de que el embarazo acelere la progresión de la enfermedad, las medidas del ARN-VIH-1 a lo largo del embarazo y después del mismo han sido evaluadas en un único caso prospectivo de cohorte. En este caso, los niveles plasmáticos de ARN-VIH-1 eran más altos a los 6 meses postparto que anteparto, para mujeres transmisoras y no transmisoras. Este incremento se observaba tanto en mujeres que habían recibido AZT durante el embarazo como las que no lo habían recibido, así como en las mujeres que habían continuado la terapia postparto<sup>440</sup>.

Las medidas son normalmente registradas como log<sub>10</sub> valor de copias ARN por mililitro, normalmente alcanzando de 10<sup>2</sup> hasta 10<sup>6</sup> copias/ml. La progresión rápida de la enfermedad está correlacionada con valores sobre las 10<sup>4</sup> copia/ml, mientras que la estabilidad clínica está asociada con valores de copias sobre los 10<sup>3</sup> copias/ml y menores<sup>441</sup>.

Los datos sobre la correlación de la CV con el riesgo de transmisión perinatal han sido conflictivos. Algunos trabajos sugieren que existe una correlación absoluta entre la copia ARN-VIH-1 y el riesgo de transmisión<sup>442</sup>. Sin embargo, en muchos trabajos han encontrado un gran solapamiento en el número de copias de ARN-VIH-1 tanto entre mujeres transmisoras como en no transmisoras; la transmisión se observa a través de la totalidad del rango de niveles de ARN-VIH-1 (incluyendo mujeres con ARN VIH-1 indetectable)<sup>440,443,444</sup>. En un estudio virológico con 44 mujeres infectadas, la AZT era efectiva en la reducción de la transmisión a pesar de los efectos mínimos sobre los niveles de ARN-VIH-1, de forma similar a lo observado en el ACTG 076<sup>445</sup>.

Un estudio reciente concluyó, a través de los datos obtenidos del ensayo ACTG 076, que el efecto protector de la AZT se produce para cualquier nivel de CV<sup>218</sup>, por lo que parecería imprudente abandonar el uso de la AZT. La recomendación del uso de la AZT, a diferencia de los otros agentes antirretrovirales, para la prevención de transmisión madre-hijo está basada en dos consideraciones:

*-Primera:* datos empíricos apoyan su uso. Ninguno de los otros agentes ha sido estudiado de forma similar.

*-Segundo:* estudios farmacocinéticos demuestran que se encuentran altos niveles del fármaco en el compartimento fetal, información que no se dispone para el resto de los agentes<sup>426</sup>.

Aunque existiera evidencia de resistencia para la AZT que pudiera hacer que la terapia de prevención de transmisión pareciera inútil, la terapia con AZT jugaría un papel en la misma, ya que aunque la madre fuese resistente, podría gestar un niño susceptible a la acción de la AZT<sup>429</sup>.

En el ACTG 076 existe relación entre el número de copias de ARN-VIH-1 y la transmisión en mujeres que reciben placebo, pero en aquellas que reciben AZT, la relación está marcadamente atenuada y no es estadísticamente significativa. El umbral más bajo de ARN-VIH-1 para el cual no exista riesgo de transmisión no ha sido identificado. La AZT es efectiva en la reducción de la transmisión sin tener en cuenta el número de copias de ARN-VIH-1. Por consiguiente, debe comentarse y ofrecerse a todas las mujeres embarazadas, independientemente del nivel de ARN-VIH-1.

Por otro lado, se ha descrito la presencia de virus en el tracto genital de mujeres con niveles de ARN-VIH-1 indetectables en plasma<sup>253</sup>. Así, la exposición al virus en el tracto genital materno durante el parto es un importante factor de riesgo para la transmisión perinatal. Por tanto, los niveles plasmáticos pudieran no ser totalmente indicadores de riesgo.

Sin embargo, debido a que se observa beneficio con la AZT a pesar de los niveles de ARN-VIH-1, y a que además existe transmisión cuando el ARN no es detectable, el ARN-VIH-1 no debería ser un factor determinante en la decisión del uso de la AZT como quimioprofilaxis contra la transmisión perinatal.

### XIC.5.- FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES Y LACTANCIA

El Servicio Público de Salud en Estados Unidos recomienda abstenerse de la lactancia materna para eliminar la transmisión postnatal del VIH-1 a través de la leche, incluso para aquellas que reciben terapia antirretroviral<sup>432</sup>.

El paso de los fármacos antirretrovirales a través de la leche ha sido evaluado sólo para unos cuantos fármacos. AZT, 3TC y nevirapina pueden detectarse en la leche materna en ratas que reciben esta terapia. La eficacia de la terapia antirretroviral para la prevención de la transmisión postnatal del VIH-1 a través de la leche materna, y la toxicidad de la exposición crónica del niño a los antirretrovirales por la misma se desconoce.

### XID.- NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS: TERAPIA COMBINADA

La terapia combinada ha demostrado reiteradamente de forma significativa mejores resultados que la monoterapia. Uno de estos ensayos fue el estudio Delta, donde las pacientes randomizadas con inmunosupresión moderada a severa recibieron combinaciones de AZT/ddI, AZT/ddC o monoterapia con AZT<sup>366</sup>. Tras treinta meses de seguimiento, aquellas pacientes que habían recibido terapia combinada tuvieron una reducción de la mortalidad más importante que las que sólo

recibieron la AZT. En pacientes con más de tres meses de uso de terapia combinada se demostró beneficio solamente entre los que recibieron AZT/ddI.

A través de la medida del ARN viral podemos darnos cuenta del poder que tienen los inhibidores de las proteasas. Mientras que el efecto de la monoterapia con nucleósidos es modesta y tiene una vida media corta, los inhibidores de las proteasas como agentes únicos, particularmente el ritonavir y el indinavir, son de 20 a 200 veces más potentes. Desafortunadamente, el efecto tiene similar vida media a los nucleósidos y disminuye con la aparición de resistencias. Cuando se combinan proteasa con nucleósidos el efecto es más profundo y aparentemente más sustancial<sup>413</sup>. El saquinavir, en combinación con AZT/ddC, no se está usando por eficacia limitada debido a su pobre biodisponibilidad. El empleo de dos nucleósidos en combinación con ritonavir o indinavir como proteasa ha demostrado en algunos estudios la disminución de los niveles de ARN, durante el empleo de la terapia, por debajo de los límites de detección con los tests normalmente empleados<sup>411,413</sup>.

Aunque el efecto directo sobre el feto con cualquiera de las combinaciones de estas terapias es realmente incierto, el beneficio para la madre es claro. Sobre esta base, la combinación de terapias es apropiada para mujeres VIH gestantes. El efecto a largo plazo de suspender la terapia combinada durante la gestación es desconocido, y tanto la paciente como su médico, deberían tener en cuenta que durante este período de tiempo tendrá lugar la replicación viral.

Determinadas circunstancias deben llevar al médico a escoger una propuesta sobre otra, es el caso de los efectos secundarios. Por ejemplo, el ritonavir está relacionado con problemas gastrointestinales, que podrían ser particularmente problemáticos en etapas precoces de la gestación; el indinavir está asociado con la hiperbilirrubinemia, por lo que no debería utilizarse en el período perinatal.

La evidencia definitiva de la seguridad durante la gestación de los nuevos agentes antirretrovirales es deficiente, aunque tampoco se dispuso de ella cuando el AZT se usó por primera vez durante el embarazo<sup>446</sup>.

Si el régimen escogido para tratar la infección por VIH no incluye el AZT, parecería juicioso mantenerlo aunque la paciente quede gestante, ya que los nuevos agentes y las terapias combinadas podrían limitar la transmisión de madre a hijo de forma más potente que la alcanzada con la monoterapia de AZT.

Aunque la quimioprofilaxis con AZT ha reducido sustancialmente la transmisión perinatal, si consideramos el tratamiento de una mujer con VIH, la monoterapia actualmente sería subóptima<sup>447</sup>. Existen pocos datos acerca de la terapia combinada en el embarazo. Un trabajo retrospectivo realizado en Suiza<sup>412</sup> evaluó los resultados obstétricos de 37 gestantes infectadas tratadas con terapia combinada. Todas recibieron dos inhibidores de la RTI y 16, uno o dos IP. Casi el 80% desarrollaron uno o más efectos secundarios (anemia, náuseas/vómitos, elevación de las enzimas hepáticas o hiperglicemia). Además, se encontró una posible asociación entre la terapia combinada con una mayor tasa de prematuros, aunque no existía diferencia entre las que recibieron IP de las que no. Pero el estadio de la enfermedad como otras covariables podrían influir en el riesgo de prematuridad.

Otros ensayos han registrado un mayor índice de niños pretérmino en mujeres infectadas y que no tomaban ningún tipo de terapia antirretroviral<sup>448,449</sup>.

Hasta más información se recomienda que la mujer infectada y que toma la terapia combinada, si queda gestante, debe continuar con la misma. Aunque deberá monitorizarse de forma regular por las posibles complicaciones o/y toxicidad que aparezcan. Así, los IP ocasionan una hiperglicemia que podría exacerbarse durante la gestación, por lo que resulta importante el control de los niveles de glucosa.

Otros efectos secundarios a la toxicidad mitocondrial de los nucleósidos análogos de RTI son: neuropatía, miopatía, cardiomiopatía, pancreatitis, esteatosis hepática y acidosis láctica, los cuales aparecen más frecuentemente en mujeres<sup>450</sup>. Estos síntomas guardan similitud al síndrome HELLP que puede ocurrir en el tercer trimestre. En 1999, unos investigadores italianos publicaron el caso de una gestante que recibió d4T/3TC desde el principio de la gestación y desarrolló una acidosis láctica severa y muerte fetal intrauterina en la semana 38<sup>451</sup>.

## XIE.-RECOMENDACIONES DURANTE LA GESTACIÓN, PARTO Y POSTPARTO

### XIE.1.-SEGUIMIENTO PREPARTO

La gestante VIH-1 debería ser controlada de la misma forma que las demás mujeres seropositivas. Debería incluir la medida de los linfocitos CD4 y los niveles de ARN aproximadamente cada trimestre (cada 3 ó 4 meses), para determinar la necesidad de terapia para la madre o el cambio en la misma, la iniciación de profilaxis contra la neumonía por pneumocystis carinii. Algunos estudios han encontrado que los cambios en la cuenta de los CD4 durante el embarazo pueden reflejar cambios en los parámetros hemodinámicos y en el volumen sanguíneo, en oposición a la influencia a largo plazo de la gestación sobre la cuenta de CD4. El porcentaje de CD4 parece más estable y reflejaría con más seguridad el estado inmune durante la gestación<sup>100,109</sup>. Deberían enfocarse planes a largo plazo en cuanto a cuidados médicos y a la continuación de la terapia, después del parto.

También se debe incluir la monitorización de complicaciones potenciales por la administración de antirretrovirales durante la gestación, teniendo como guía los efectos secundarios conocidos. Por ejemplo, la rutina hematológica y la monitorización de las enzimas hepáticas deben recomendarse en mujeres que reciben AZT; y debido a que existe menos experiencia con el uso de terapias combinadas durante la gestación, debería garantizarse una monitorización más intensiva en aquellas mujeres que reciben otros fármacos, además de AZT.

La monitorización fetal anteparto en mujeres que reciben solamente profilaxis con AZT debería ser sólo por indicación clínica. Los datos disponibles no indican que el uso de AZT durante la gestación esté asociado con un incremento de las complicaciones fetales. Aún se conocen menos los efectos de la combinación de varios fármacos antirretrovirales sobre el feto, por lo que la monitorización en estos

casos debería ser más intensiva, incluyendo un buen estudio ecográfico de la anatomía del feto y control tanto del crecimiento, como del bienestar fetal durante el tercer trimestre.

## XIE.2.-RECOMENDACIONES INTRAPARTO

Aquellos procedimientos obstétricos que incrementan el riesgo de exposición fetal a la sangre materna como es la monitorización interna, han sido implicados en el incremento de la transmisión perinatal<sup>128</sup>. Debe ser eliminado del protocolo habitual la amniorrexis artificial y la introducción de catéteres para medir la presión intraamniótica y electrodos sobre la calota fetal para registrar la frecuencia cardíaca fetal, debiendo sólo ser consideradas cuando existan indicaciones obstétricas y se prevea que va a ser breve. En el caso de una rotura espontánea de las membranas durante el trabajo de parto, se intentará que el tiempo sea lo más corto posible. Se ha demostrado un incremento de transmisión si la rotura de membranas se produjo en más de 4 horas antes del parto<sup>142,247</sup>.

Para aquellas mujeres en quienes el diagnóstico de la infección se hace próximo al momento del parto, varios estudios han identificado dos posibles regímenes (AZT/3TC o nevirapina) que podrían ser efectivos, consiguiendo una reducción de la transmisión hasta el 11% frente al 17% recogido en pacientes que tomaron placebo<sup>452</sup>. En un ensayo clínico realizado en Sudáfrica, se comparó el efecto de la nevirapina (dos dosis intraparto) frente a AZT/3TC (intraparto-postparto) sobre la reducción de la transmisión y la toxicidad materno-fetal, sin encontrar diferencias significativas<sup>453</sup>. Tanto la nevirapina como la AZT atraviesan rápidamente la placenta alcanzando niveles en el feto igual a los de la madre. La nevirapina no sólo resultaría menos costosa, sino que también sería capaz de reducir los niveles de ARN del VIH-1 al menos 1.3 log<sup>454</sup>. Sin embargo, con una única mutación del codón 181 sería suficiente para crear resistencias a la nevirapina frente a las múltiples mutaciones que requiere la AZT<sup>455</sup>.

En cuanto al modo del parto, en un meta-análisis de 15 cohortes prospectivos con más de 7.800 gestantes<sup>456</sup> concluyó que la tasa de transmisión fue significativamente inferior en aquellas mujeres que se sometieron a una cesárea electiva frente al resto, independientemente de que recibieran o no, tratamiento con AZT. Por otro lado, en otro estudio prospectivo no encontraron diferencias significativas en cuanto a transmisión, cuando se comparaba cesárea no electiva y parto vaginal<sup>258</sup>. Estos datos están en revisión por el Comité Obstétrico del Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología para determinar una opinión en lo concerniente a la vía del parto<sup>457</sup>.

Las complicaciones, especialmente las infecciones postparto, son cinco a siete veces más comunes en una cesárea, una vez iniciado el parto o con rotura prematura de membranas, que en el parto vaginal<sup>458</sup>. Los factores que incrementan el riesgo de complicaciones postoperatorias incluyen un bajo nivel socioeconómico, infecciones genitales, obesidad, malnutrición, tabaquismo o un prolongado trabajo de parto o rotura de membranas.

### XIE.3.-ACTUACIÓN NEONATAL

Antes de la administración de AZT debería realizarse un estudio completo sanguíneo como evaluación inicial. La anemia ha sido la complicación primaria del tratamiento con AZT durante 6 semanas en el neonato. Como mínimo debería repetirse la medida del valor de la hemoglobina una vez terminadas las seis semanas. Los análisis deberían repetirse a las 12 semanas de edad, que es el momento en que cualquier toxicidad hematológica relacionada con la AZT debería estar resuelta. A los recién nacidos con anemia y a los prematuros, se les debería garantizar unos controles más intensivos.

En aquellos niños cuyas madres recibieron terapia antirretroviral combinada, es aconsejable el control tanto del hemograma como de la bioquímica en las primeras semanas de vida.

Todos los niños nacidos de madres infectadas por el VIH-1 deberían recibir profilaxis contra el pneumocystis carinii hasta las seis semanas de vida, junto al régimen de profilaxis de AZT<sup>432</sup>.

Los efectos de la terapia combinada antirretroviral en la madre y/o el recién nacido sobre la sensibilidad en los tests de diagnóstico virológico son desconocidos. Los niños con tests negativos virológicos durante las primeras seis semanas de vida deberían tener una evaluación diagnóstica repetida después de completar el régimen de profilaxis antirretroviral.

Incluso, *Wade y colaboradores* encontraron una reducción en la transmisión si el fármaco era administrado dentro de las primeras 24 horas del nacimiento y durante seis semanas<sup>459</sup>.

### XIE.4- SEGUIMIENTO POSTPARTO DE LA MUJER Y EL RECIÉN NACIDO

Se requiere un cuidado amplio y servicios de apoyo tanto para las mujeres infectadas por el VIH-1, como para su familia. Debe existir coordinación entre los cuidados de la mujer, su hijo y otros miembros de la familia: los servicios de apoyo para el cuidado de los niños, la asistencia en las necesidades básicas de la vida tales como el alojamiento, la alimentación y el transporte, y los servicios legales y de defensa.

Este seguimiento debería comenzar antes de la gestación, continuando durante la misma y el postparto.

En el postparto deberían actuar tanto el obstetra como el especialista. La continuación de la terapia antirretroviral debería estar asegurada, así como asistencia para la planificación familiar y la contracepción.

Datos del ACTG 076 y 288 relativos a mujeres que recibieron AZT durante la gestación, no recogen efectos adversos 18 meses después. Sin embargo, el seguimiento clínico, inmunológico y virológico en estas pacientes se mantiene<sup>434</sup>. La tasa de mortalidad en los niños expuestos fue de 1.4% frente al grupo placebo 3.5%.

Aquellas mujeres que recibieron AZT durante la gestación deberían recibir una evaluación apropiada para determinar el tipo de terapia antirretroviral durante el período postparto.

Datos recogidos del análisis ACTG 288 tras cuatro años de seguimiento, no encuentran diferencias en el recuento de los linfocitos CD4, el tiempo de progresión a SIDA o muerte, entre las mujeres que recibieron AZT durante la gestación frente a las que recibieron placebo<sup>460</sup>.

En datos procedentes del ACTG 076, en niños seguidos hasta los 5 a 6 años de edad, no aparecen diferencias inmunológicas, neurológicas y en los parámetros de crecimiento entre los niños expuestos al AZT y comparados con los que recibieron placebo<sup>461</sup>.

El ACTG 219 debería también proporcionar el seguimiento intensivo para los niños de madres que recibieron otros fármacos como parte de los protocolos perinatales del ACTG.

En el grupo de 727 del ensayo ACTG 076 tampoco detectaron mayor porcentaje de neoplasias entre los niños expuestos intraútero a la AZT en los 6 primeros años de vida<sup>435</sup>.

Serán necesarios nuevos métodos para proporcionar un seguimiento de los niños con exposición intraútero al AZT o cualquier otro antirretroviral fuera de los protocolos de la ACTG.

La información respecto a tal exposición debería ser parte del seguimiento médico registrado de los niños, particularmente en los niños no infectados.

Este seguimiento debe continuar durante la edad adulta sobre la base del potencial carcinogénico de los análogos nucleósidos.

A largo plazo, debería incluir por lo menos un examen físico y, para niñas adolescentes, una evaluación ginecológica.



<b>FARMACO</b>	<b>FDA</b>	<b>Paso placentario</b>	<b>DOSIS</b>	<b>EFECTOS SECUNDARIOS</b>
<b>NUCLEÓSIDOS ANÁLOGOS DE LA RETROTRANSCRIPTASA INVERSA</b>				
<b>ZITOMIDINA</b>	C	SI (Humanos)	100mg/4 horas	Anemia, esteatosis hepática, fiebre, miopatía y reacción de hipersensibilidad
<b>IDANOSINA</b>	B	SI (Humanos)	>60 kg 200mg/12 horas < 60 kg 125mg/12 horas	Pancreatitis, diarrea y la neuropatía periférica
<b>ALCITABINA</b>	C	SI (mono rhesus)	0.75mg/8 horas	Neuropatía periférica, rash, y úlceras orales.
<b>STAVUDINA</b>	C	SI (mono rhesus)	>60 kg 40 mg/12 horas < 60 kg 30 mg/12 horas	Neuropatía periférica y gastrointestinales
<b>BACAVIR</b>	C	SI (ratas)	300mg/día	No recomendable en pacientes con peso < 40Kg. Reacción de Hipersensibilidad.
<b>AMIVUDINA</b>	C	SI (Humanos)	150 mg/12 horas	Náuseas, dolor abdominal, cefaleas, diarrea y otros síntomas neurológicos
<b>ANÁLOGOS NO NUCLEÓSIDOS DE LA RETROTRANSCRIPTASA INVERSA</b>				
<b>EVIRAPINA</b>	C	SI (Humanos)	200mg /12 horas	Rash cutáneo, hepatitis, aumento de las transaminasas.
<b>ELARVIDINA</b>	C	Desconocido	400 mg/8 horas	Exantema cutáneo, cefaleas, náuseas y vómitos, aumento de las transaminasas.
<b>FAVIRENZ</b>	C	SI (conejos,ratas)	600m/24 horas	Exantema, vértigo, insomnio, agitación, incapacidad para la concentración.
<b>INHIBIDORES DE LA PROTEASA</b>				
<b>AQUINAVIR</b>	B	Mínimo (ratas, conejos)	600 mg/8 horas	Diarrea, malestar abdominal y náuseas
<b>ITONAVIR</b>	B	SI (ratas)	600 mg/12 horas	Malestar abdominal y parestesias periorales
<b>IDINAVIR</b>	C	SI (ratas, conejos)	800 mg/12 horas	Hiperbilirrubinemia y litiasis renal.
<b>MPRENAVIR</b>	C	Desconocido	1200mg/día	Rash, parestesias, depresión, alteraciones gastrointestinales
<b>ELFINAVIR</b>	B	Desconocido	250 mg/8 horas	Malestar abdominal, náuseas y otros efectos gastrointestinales

**Tabla 7.-Descripción de los fármacos antirretrovirales: categoría según la FDA, paso placentario, dosis y efectos secundarios.**

## ***JUSTIFICACIÓN***

---

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida ha tenido un gran impacto en la sociedad debido a sus aspectos epidemiológicos, la evolución de la enfermedad y la ausencia de un tratamiento con poder curativo. Por otro lado, la incorporación de forma creciente de mujeres, mayoritariamente en edad reproductiva, afectas por el VIH determina una asociación cada vez más frecuente de mujer gestante y portadora del virus, lo cual reviste un especial interés debido a la posible afectación de un recién nacido.

Ante esta situación se inició el trabajo actual, con carácter prospectivo que permitiría analizar diversas cuestiones. Inicialmente nos ayudaría a cuantificar la tasa de gestantes portadoras del VIH al centralizar su control en nuestro hospital. De esta manera, conseguiríamos obtener aspectos epidemiológicos y determinaríamos factores de riesgo asociados a la transmisión perinatal, que a su vez pudiesen ser eliminados.

Inicialmente la gestante seropositiva recibiría información sobre las tasas de afectación fetal, la posibilidad de finalización de la gestación apoyándose en la ley vigente en caso de fuese solicitado por la madre, y la disponibilidad de un seguimiento adecuado tanto para ella como para su futuro hijo, dentro del marco de la confidencialidad.

Una vez enroladas, su seguimiento permitiría determinar la influencia que el virus de la inmunodeficiencia pudiera ejercer tanto en el curso de la gestación como en los resultados obstétricos.

Y viceversa, el efecto que pudiera acarrear el embarazo en la evolución del VIH mediante una valoración clínica de la gestante, serológica con la determinación del antígeno p24, el seguimiento de marcadores biológicos (cifra de hematocrito y albúmina, proteínas totales y proteinograma) y finalmente, de los marcadores de progresión como la población linfocitaria, inmunoglobulinas o la  $\beta$ -2 microglobulina.

Tendríamos la opción de estudiar el fenómeno de la transmisión perinatal con el fin de aclarar los mecanismos de afectación fetal y del recién nacido. En esta misma línea, se realizarían estudios histológicos y moleculares tanto de la placenta procedente de las gestaciones a término como de las pacientes sometidas a una interrupción de la gestación, para discernir el papel que esta desempeña como órgano modulador del paso del virus de la madre al feto; también se aplicarían estos estudios a los tejidos fetales procedentes de interrupciones voluntarias de embarazo.

Con los resultados obtenidos, quizás podríamos aportar datos nuevos en la línea de la investigación de la transmisión madre-hijo o bien ratificar aquellos ya existentes.

## *Justificación*

---

Concluyendo todo ello en el desarrollo de un protocolo asistencial o plan de actuación adecuado en nuestro medio, tanto durante el proceso de la gestación como en el momento de asistencia al parto con el fin salvaguardar la salud de la madre y, al mismo tiempo, minimizar los riesgos de transmisión vertical sin ocasionar con ello unos peores resultados perinatales, en el colectivo de gestantes portadoras del virus de inmunodeficiencia adquirida.

Finalmente, el recién nacido sería controlado los primeros años de vida por un pediatra especializado que valoraría la posible afección del niño.

Para ello se han utilizado el material y método siguientes:

## ***MATERIAL Y MÉTODO***

---

Para la captación de las gestantes embarazadas portadoras del VIH y en el marco del Proyecto de Investigación número 92/030 de la Dirección General de Universidades e Investigación de la Consejería de Educación Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias (B.O.C. nº 157 de 13 de diciembre de 1993), se establecieron contactos con la Consejería de Sanidad, Trabajo y Seguridad Social del Gobierno de Canarias y con el Hospital N<sup>o</sup> S<sup>a</sup> de la Candelaria y se protocolizó la remisión al Hospital Universitario de Canarias de todas las gestantes portadoras del VIH, tanto las que se quisieran acoger a la ley vigente sobre la interrupción de la gestación, como aquellas que decidieran continuar con su embarazo.

Todas las pacientes objeto del estudio son mujeres embarazadas portadoras de Ac VIH detectados mediante técnica de ELISA (repetido en un mínimo de dos ocasiones) y posterior confirmación con técnica de Western Blot, un porcentaje de estas mujeres se acogieron a la ley vigente de interrupción del embarazo (I.V.E.). Existen, pues, dos grupos de placentas en las que se han realizado los estudios moleculares de transmisión del VIH: a) Placentas de menos de 22 semanas procedentes de portadoras conocidas que han decidido una I.V.E.; y b) Placentas de más de 22 semanas pertenecientes a portadoras conocidas que han seguido adelante con su gestación. En cuanto a los productos de la concepción se ha estudiado la transmisión vertical en dos grupos: a) Fetos de menos de 22 semanas obtenidos después de la I.V.E.; y b) Recién nacidos de las pacientes que decidieron continuar con su embarazo.

## **I.-POBLACIÓN DE EMBARAZADAS PORTADORAS VIH**

Entre los años 1993 y 1999 se han remitido a la Consulta de Embarazos de Alto Riesgo Especializada en Gestación y Toxicomanías-VIH del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario de Canarias, un total de 65 pacientes gestantes portadoras VIH. De ellas se han podido reclutar de forma prospectiva y para la realización de este trabajo a un total de 42 pacientes que han cumplimentado los protocolos establecidos. Todas ellas presentaban diagnóstico de certeza consistente en dos determinaciones de ELISA de última generación positivas y posterior confirmación con técnica de Western Blot y todas se encontraban en estadio de portadoras asintomáticas sin haber presentado expresión clínica alguna de enfermedad por VIH.

En la primera visita la embarazada recibía información de los riesgos de transmisión perinatal (estimados según los últimos estudios multicéntricos aceptados por la comunidad científica especializada), de los eventuales efectos que sobre el embarazo y la propia paciente pueden tener los fármacos antirretrovirales, del riguroso control que debían seguir durante la gestación, y siempre que estuviera en edad gestacional legal para una eventual I.V.E., de la posibilidad contemplada dentro de la ley vigente de interrumpir el embarazo. Se establecieron, así, dos grupos de estudio: a) Grupo I formado por 28 pacientes que deciden continuar con su gestación; y b) Grupo II constituido por 14 embarazadas que optaron por someterse a una I.V.E.

## *Material y Método*

En la tabla 8 se muestran la edad y antecedentes reproductivos referidos al total de pacientes y por grupos.

	<b>TOTAL (n=42)</b>	<b>GESTANTES (n=28)</b>	<b>I.V.E. (n=14)</b>
<b>EDAD</b>			
Media	<b>26</b>	<b>26</b>	<b>28</b>
Rango	<b>(17-37)</b>	<b>(17-37)</b>	<b>(18-37)</b>
<b>ABORTOS</b>			
1 I.V.E.	<b>9 (21.42 %)</b>	<b>7 (25 %)</b>	<b>2 (14.28 %)</b>
1 aborto	<b>4 (9.52%)</b>	<b>-</b>	<b>4 (28.57%)</b>
2 abortos	<b>2 (4.76%)</b>	<b>2 (7.14%)</b>	<b>-</b>
<b>PARIDAD</b>			
Nulíparas	<b>22 (52.39%)</b>	<b>14 (50%)</b>	<b>8 (57.14%)</b>
1-2 partos	<b>17 (40.47%)</b>	<b>12 (42.86%)</b>	<b>5 (35.72%)</b>
>2 partos	<b>3 (7.14%)</b>	<b>2 (7.14%)</b>	<b>1 (7.14%)</b>

**Tabla 8.-** Edad y paridad.

En la tabla 9 se puede observar la distribución por edad gestacional en el momento de la finalización de la gestación de las embarazadas que decidieron la I.V.E.

<b>EDAD GESTACIONAL</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
Menos de 12 semanas	10	71.42
De 12 a 18 semanas	2	14.29
De 18 a 22 semanas	2	14.29

**Tabla 9.-** Distribución por edad gestacional del grupo de I.V.E.

En el total de las 42 gestantes seropositivas que acudieron para consejo prenatal a nuestra consulta de embarazo de alto riesgo del Hospital Universitario de Canarias, hemos recogido en la historia clínica aquellos antecedentes personales médico-quirúrgicos de interés, factores de riesgo como el consumo de drogas ilícitas, comportamientos de riesgo (la prostitución, promiscuidad, pareja seropositiva, etc.), antecedente de transfusión de sangre o hemoderivados y el estado de su serología (hepatitis B, hepatitis C, citomegalovirus, toxoplasmosis, rubeola y sífilis). Así mismo se estableció como el estadio de la enfermedad en el momento de la recepción estando todas ellas en estadio A1 y A2 (portadoras asintomáticas) de la clasificación del CDC revisada en 1993.

En ninguna paciente se recogió el antecedente de transfusión de sangre o hemoderivados.

### *Material y Método*

Los antecedentes médico-quirúrgicos de estas pacientes, de forma global o diferenciando independientemente si se trata de gestantes que continuaron la gestación o interrumpieron el embarazo, se recogen en la tabla 10.

	<b>TOTAL (n=42)</b>	<b>GESTANTES (n=28)</b>	<b>I.V.E. (n=14)</b>
<b>ANTECEDENTES MÉDICOS</b>			
Alergias medicamentosas	<b>3</b>	<b>3</b>	-
Úlcus gastroduodenal	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Urticaria	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Hipertensión arterial	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Epilepsia	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Depresión	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Tuberculosis	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Bronquitis crónica	<b>1</b>	-	<b>1</b>
Herpes Zoster	<b>1</b>	-	<b>1</b>
Infección urinaria de repetición	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Pielonefritis	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Hepatopatía crónica	<b>1</b>	<b>1</b>	-
<b>ANTECEDENTES QUIRÚRGICOS</b>			
Amigdalectomía	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>2</b>
Adenoidectomía	<b>1</b>	-	<b>1</b>
Apendicectomía	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>1</b>
Esplenectomía	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Cirugía ortopédica	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES GINECOLÓGICOS</b>			
Condilomas perineales	<b>1</b>	<b>1</b>	-
Vaginitis micóticas de repetición	<b>1</b>	-	<b>1</b>
Displasia cervical (CIN II)	<b>1</b>	<b>1</b>	-

**Tabla 10.-** Distribución de antecedentes médicos, quirúrgicos y ginecológicos de interés.

En 28 pacientes (66.67%) se detectó el antecedente de consumo ilícito de drogas (heroína y/o cocaína), en la tabla 11 se puede apreciar la distribución en la forma de consumo de las mismas. Diferenciamos aquellas que refieren en algún momento historia de adicción por vía parenteral (ADVP) de las que nunca han utilizado esta vía. Por otro lado, se contempla en el momento del diagnóstico del embarazo si la mujer es consumidora, está en tratamiento de deshabituación o mantenimiento con metadona en los centros de atención al drogodependiente (CAD), o no consume actualmente. Todas las pacientes que tenían este hábito en el momento del diagnóstico de la gestación pasaron a tratamiento de deshabituación-mantenimiento con metadona.

*Material y Método*

<b>PACIENTES TOXICÓMANAS</b>	<b>TOTAL (n=28)</b>	<b>GESTANTES (n=21)</b>	<b>I.V.E. (n=7)</b>
<b>Drogadicción con antecedente de ADVP</b>	<b>24</b>	<b>17</b>	<b>7</b>
<b>No consumo actual</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>5</b>
<b>Consumo actual</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>2</b>
(deshabitación con metadona)			
Antes de la gestación	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>-</b>
Hasta 1º Trimestre	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
Hasta 2º Trimestre	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>Drogadicción sin antecedente de ADVP</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>-</b>
<b>No consumo actual</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Consumo actual</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>-</b>
(deshabitación con metadona)			
Hasta 1º Trimestre	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>-</b>

**Tabla 11.-** Perfil en el consumo de drogas ilícitas del grupo de pacientes toxicómanas.

Por deducción de lo expuesto en los párrafos anteriores podemos concluir que en nuestra población el contagio pudo producirse por vía parenteral en el 57.15% (siempre consumo de drogas ilícitas) y por vía sexual en el restante 42.85%.

La positividad serológica frente a Rubeola, Citomegalovirus, Toxoplasmosis, Lúes, Hepatitis B y C, se recogen en la tabla 12, tanto de forma global, como diferenciando aquellas pacientes adictas a drogas de la que no lo eran.

<b>SEROLOGÍA</b>	<b>TOTAL (n=42)</b>	<b>TOXICÓMANAS (n=28)</b>	<b>NO TOXICÓMANAS (n=14)</b>
<b>IgG Rubeola</b>	<b>38 (90.47%)</b>	<b>27 (96.42%)</b>	<b>11 (78.57%)</b>
<b>IgM Rubeola</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>IgG Toxoplasmosis</b>	<b>14 (33.33%)</b>	<b>9 (32.14%)</b>	<b>5 (35.71%)</b>
<b>IgM Toxoplasmosis</b>	<b>1 (2.38%)</b>	<b>-</b>	<b>1 (7.14%)</b>
<b>IgG CMV</b>	<b>40 (95.23%)</b>	<b>28 (100%)</b>	<b>12 (85.71%)</b>
<b>IgM CMV</b>	<b>3 (7.14%)</b>	<b>3 (10.71%)</b>	<b>-</b>
<b>VDRL</b>	<b>11 (26.19%)</b>	<b>11 (39.28%)</b>	<b>-</b>
<b>FTA</b>	<b>2 (5.55%)</b>	<b>2 (7.14%)</b>	<b>-</b>
<b>HBSAg</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>HbcAc</b>	<b>4 (9.52%)</b>	<b>4 (14.28%)</b>	<b>-</b>
<b>HBSAc</b>	<b>14 (33.33%)</b>	<b>13 (46.42%)</b>	<b>1 (7.14%)</b>
<b>Ac Hepatitis C</b>	<b>25 (59.52 %)</b>	<b>25 (89.28%)</b>	<b>-</b>

**Tabla 12.-** Positividad serológica frente a Rubeola, Toxoplasmosis, Citomegalovirus, Lúes, Hepatitis B y C.

En la tabla 13 se recoge el antecedente de consumo de drogas y estado de serología VIH de la pareja, referido por la misma o por la gestante en el momento de elaborar su historia clínica.

<b>PAREJA</b>	<b>N (n=42)</b>	<b>GESTANTE (n=28)</b>	<b>I.V.E. (n=14)</b>
<b>Consumo actual</b>	<b>7 (16.6%)</b>	<b>5 (17.85%)</b>	<b>2 (14.28%)</b>
<b>No consumo o antecedente De consumo</b>	<b>13 (31%)</b>	<b>11 (39.3%)</b>	<b>2 (14.28%)</b>
<b>No antecedente de consumo</b>	<b>4 (9.56%)</b>	<b>3 (10.71%)</b>	<b>1 (7.14%)</b>
<b>Antecedente de dependencia tóxica desconocida</b>	<b>18 (42.84%)</b>	<b>9 (32.14%)</b>	<b>9 (64.3%)</b>
<b>VIH positivo</b>	<b>24 (57.14%)</b>	<b>17 (60.71%)</b>	<b>7 (50%)</b>
<b>VIH negativo</b>	<b>4 (9.56%)</b>	<b>3 (10.71%)</b>	<b>1 (7.14%)</b>
<b>Serología VIH desconocida</b>	<b>14 (33.33%)</b>	<b>8 (28.58%)</b>	<b>6 (42.86%)</b>

**Tabla 13.-** Estado serológico y consumo de drogas ilícitas en la pareja.

## **II.-POBLACIÓN DE PLACENTAS, FETOS Y RECIÉN NACIDOS**

En el grupo de embarazadas en que se continuó la gestación la totalidad de las 28 placentas fueron recogidas para estudio anatomopatológico y 20 placentas para hibridación *in situ*. De las mujeres que se sometieron a interrupción del embarazo se realizó estudio anatomopatológico a los 14 restos ovulares-placentarios, e hibridación *in situ* a 6 fetos y 8 restos ovulares-placentarios. En la tabla 14 se describe la distribución de estas poblaciones.

Cumplimentaron el seguimiento del recién nacido, gracias a la colaboración del Servicio de Pediatría de nuestro centro, con un mínimo de 18 meses 23 niños (rango 18 meses-7 años), del resto hemos obtenido información mediante encuesta telefónica con la madre, familiares y apoyo de su pediatra de zona. En la tabla 15 se observa la distribución de los niños que fueron controlados.

	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Placentas de RN. Estudio Anatomía Patológica</b>	28	100
<b>Placentas de RN. Estudio Hibridación <i>In Situ</i></b>	20	71.42
<b>Fetos de I.V.E. Estudio Anatómo-Patológico</b>	7	50
<b>Fetos de I.V.E. Estudio Hibridación <i>In Situ</i></b>	6	42.85
<b>Restos ovulares de I.V.E. Estudio Anatomía Patológica</b>	14	100
<b>Restos ovulares. Estudio Hibridación <i>In Situ</i></b>	8	57.14

**Tabla 14.-** Distribución de las técnicas empleadas en el grupo de gestantes y grupo de I.V.E.

## Material y Método

	N	%
RN controlados Hospital Servicio Pediatría	23	82.14
RN pediatra de Centro de Salud	5	17.86

**Tabla 15.-**Distribución de los recién nacidos controlados.

### III.-METODOLOGÍA CLINICO-ASISTENCIAL

#### III.A.-GESTANTES QUE DECIDIERON LA INTERRUPCIÓN VOLUNTARIA DEL EMBARAZO

A un total de 14 gestantes que se acogieron a la ley vigente sobre la interrupción voluntaria del embarazo se le realizaron una serie de controles analíticos habituales, hemograma, bioquímica y sedimento de orina, así como estado serológico y marcadores de progresión propios del virus VIH.

##### III.A.1.-CONTROL ANALÍTICO

Previo a la I.V.E. se cumplimentó el mismo protocolo analítico que se solicita en la primera visita durante la gestación en aquellas pacientes que van a continuar con su embarazo. A los 30 y 60 días después de la I.V.E. se citaba la paciente para repetir la esta batería analítica. En la tabla 16 se puede observar el protocolo analítico solicitado.

<b>ANALÍTICA GENERAL</b> Hemograma Tiempo de Protrombina Glucemia basal y postprandial GOT, GPT, GGT, LDH, FA, CPK Proteinograma: albúmina, globulinas y cociente albúmina/globulina Sedimento y anormales-Urocultivo	<b>SEROLOGÍA</b> VDRL y FTA Toxoplasmosis Citomegalovirus Rubeola HBsAg, HBsAc, HBcAc Hepatitis C
<b>TEST DE KLEINHAÜER</b>	
<b>MARCADORES DE PROGRESIÓN</b> Población linfocitaria: CD4, CD8, CD4/CD8 Inmunoglobulinas: Ig A, Ig E, Ig M e Ig G $\beta$ -2 microglobulina Antígeno P24	

**Tabla 16.-** Protocolo analítico solicitado a las gestantes que se acogen a la ley de interrupción de embarazo.

IIIA.2.-ASISTENCIA A LA I.V.E.

El procedimiento de la I.V.E. comienza entre 6 y 12 horas antes de la intervención con la preparación del cuello mediante la colocación intracervical de uno a tres tallos de laminaria (Laminaria ®) impregnados en gel de Prostaglandina E<sub>2</sub> (Prepidil Gel ®). En aquellas embarazadas con edad gestacional (comprobada ecográficamente) inferior a 12 semanas se procedió a la dilatación mecánica (tallos de Hegar) y legrado evacuador directo (legra roma, cánula de aspiración). Cuando era superior o igual a 12 semanas se utilizó la inyección intraamniótica transabdominal, bajo guía ecográfica, de 10 mg de Prostaglandina E<sub>2</sub> ®. En la tabla 17 se puede apreciar la distribución de las I.V.E. por tipo de procedimiento y la incidencia de ligadura tubárica bilateral (LTB) en el mismo acto quirúrgico. En la tabla 18 se muestran las principales variables clínicas de la técnica de I.V.E. mediante la inyección intraamniótica de PgE<sub>2</sub>.

<b>MODO DE INTERRUPCIÓN</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
Legrado directo	10	71.42
PgE <sub>2</sub> Intraamniótica	4	28.58
LTB	8	57.14

**Tabla 17.-** Procedimientos de la I.V.E.

<b>Prostaglandina E<sub>2</sub> I.A.</b>	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>	<b>Caso 3</b>	<b>Caso 4</b>
Efectos Secundarios	-	-	Vómitos	-
Tiempo de Expulsión Fetal	2 horas	6 horas 30 min	6 horas	8 horas
Tiempo de Expulsión Placenta	0	0	0	0
Necesidad de Legrado Posterior	Sí	Sí	No	No
Pérdida Hemática	Normal	Moderado	Normal	Normal

**Tabla 18.-** Datos correspondientes a la I.V.E. mediante la inyección intraamniótica (I.A.) de PgE<sub>2</sub>.

IIIB.-EMBARAZADAS QUE DECIDIERON CONTINUAR CON LA GESTACIÓN

IIIB.1.-CONTROL CLÍNICO DURANTE EL EMBARAZO

Las pacientes se controlaron la gestación en la consulta de embarazo de alto riesgo de Toxicomanías-VIH del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario de Canarias. La periodicidad de las consultas fue mensual hasta la semana 34 y posteriormente cada dos semanas hasta la fecha probable de

parto en que iniciaban los controles propios de final de gestación cada 72 horas. Este ritmo de visitas se alteró en ocasiones por la presencia de la patología que requiso contacto entre la gestante y su obstetra.

En la primera visita se recogió una historia clínica detallada y exploración ginecológica completa, incluyendo la realización de colpocitología, un examen en fresco del flujo vaginal y test de aminas y recogida de otra muestra vaginal y cervical para cultivo. La muestra cervical se sembró en Thayer-Martin, agar-chocolate, agar-sangre y Mac Conkey, y se hizo una extensión para tinción de Gram. La muestra vaginal, además, se sembró en medio Saboureaud, medio para *Trichomonas Vaginalis*, *Micoplasma Hominis* y *Ureaplasma Urealiticum*, y se completó con una extensión para Gram. A esto se sumó la detección de *Chlamydia Trachomatis* mediante la recogida de orina (primer chorro) a la que se aplicó la Reacción en Cadena de la Ligasa.

En cada control se valoró el peso e incremento ponderal, presencia y calidad de edemas, signos de insuficiencia venosa, percepción de movimientos fetales, cumplimentación de la toma de medicación y atención a la sintomatología que pudiera presentar.

En el grupo de pacientes toxicómanas se cumplimentó con un control paralelo en los centros de atención a drogodependientes. El equipo terapéutico (médico, asistente social y psicólogo) valoraron individualmente el historial de consumo, entorno social y la motivación en el momento de pautar un plan de deshabitación mediante metadona, y posteriormente, su reducción-supresión a lo largo de la gestación. Para ello siguieron controles periódicos con cada uno de los componentes, quienes aseguraban un cumplimiento adecuado y adhesión de la paciente a los protocolos de tratamiento, descartando el consumo incontrolado mediante la detección de metabolitos en orina, mostrando apoyo psicológico dado el ambiente social en el cual habitualmente se hallan inmersos, y favoreciendo una elasticidad de horario en las consultas.

### IIIB.2.-CONTROL ANALÍTICO

En la tabla 19 se describe el seguimiento analítico que se llevo a cabo en las gestantes que continuaron su embarazo.

La analítica y los marcadores de progresión se repitieron en el postparto inmediato (2-3 días después del nacimiento), puerperio tardío y con más de 60 días.

<b>ANALÍTICA GENERAL</b> (cada dos meses) Hemograma Tiempo de Protrombina Glucemia basal y postpandrial GOT, GPT, GGT, FA, LDH y CPK Proteinograma: albúmina, globulina, albúmina/globulina Sedimento y Anormales-Urocultivo	<b>SEROLOGÍA</b> (primera visita, 24 y 38 semanas) VDRL y FTA Toxoplasmosis Citomegalovirus Rubeola HBSAg, HBSAc, HBcAc Ac Hepatitis C
<b>TEST DE KLEINHAÜER</b>	
<b>MARCADORES DE PROGRESIÓN</b> (cada dos meses) Población linfocitaria: CD4, CD8 y CD4/CD8 $\beta$ -2 microglobulina Inmunoglobulinas: Ig A, Ig E, Ig M, Ig G Antígeno P24	

**Tabla 19.-** Seguimiento analítico de las gestantes que decidieron continuar con el embarazo.

#### IIIB.2.1) Técnica de Kleinhauer-Betke

En el Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario de Canarias se encarga de la realización de la técnica de Kleinhauer-Betke, la cual permite determinar si se ha producido contacto entre la sangre materna y la fetal. En condiciones normales, prácticamente no existen hematíes que contengan hemoglobina fetal (<1%). De esta manera, si a una mujer embarazada se le detectan hematíes fetales en su torrente circulatorio, nos llevaría a pensar que se ha producido paso transplacentario de sangre fetal. La reacción se basa en la mayor resistencia de la hemoglobina fetal a la elución cuando los hematías extendidos sobre un frotis se someten a valores de pH ácidos, lo cual se pone de manifiesto por su intensa coloración roja. La técnica es cuantificable, pudiendo deducir según los valores una mayor o menor contaminación y, por tanto, indirectamente, la posibilidad de transmisión transplacentaria del VIH.

#### IIIB.3.-PRUEBAS COMPLEMENTARIAS DE BIENESTAR FETAL

En la primera visita se practica una ecografía (Ecógrafo Aloka IB 375/2319) para realizar el diagnóstico de certeza de la gestación y comprobar la correcta edad gestacional (ecográfica) y fecha probable de parto. En cada visita sucesiva se lleva a cabo una ecografía para la valoración del crecimiento fetal

(diámetros biparietal y abdominal, longitud femoral y circunferencias cefálica y abdominal), la presencia de malformaciones, el grado de madurez placentaria (clasificación de Grannum - Grado I a Grado IV) y la valoración subjetiva de la cantidad de líquido amniótico.

A partir de la 34 semana se realizaron registros cardiotocográficos basales semanales (Cardiotocógrafo Hewlett Packard 8040 A), hasta el momento de la fecha probable de parto.

Una vez alcanzada la fecha probable de parto, semana 40, se inicia los Controles de Final de Gestación (CFG) que incluye la práctica cada 3 ó 4 días de ecografía para la valoración de la cantidad de líquido amniótico y grado placentario, registro cardiotocográfico basal para el estudio de la frecuencia cardiaca fetal y la presencia de contracción, acompañado todo ello de una valoración clínica (tensión arterial, sintomatología subjetiva, pérdida de líquido o sangrado vaginal, patrón de movimientos fetales). Una vez en la semana 40-41 y otra en 41-42 se realiza un estudio hemodinámico eco-doppler fetal (Ecógrafo Toshiba Sonolayer SSA-250A) a nivel de arteria umbilical, registrando el índice de resistencia.

Se omiten los tactos vaginales rutinarios, la práctica de amnioscopia y la prueba de esfuerzo con oxitocina de los CFG debido al riesgo hipotético de pequeños desprendimientos coriales o amnióticos que puedan en poner en contacto directo sangre materna y fetal.

#### IIIB.4.-TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DURANTE LA GESTACIÓN

Catorce gestantes controladas en nuestra unidad siguieron tratamiento antirretroviral (50%). Doce gestantes (42.85%) iniciaron el protocolo ACTG 076 durante la gestación a partir de la 14 semana. A dos de ellas (16.66%) se introdujo terapia combinada, una desde el primer trimestre (azitomidina + didanosina + lamivudina) y la segunda en el segundo trimestre de gestación (azitomidina + lamivudina). En 14 gestantes (50%) se siguió el protocolo ACTG 076 de administración de AZT durante el parto. En la tabla 20 se puede observar el protocolo ACTG 076 de administración de AZT durante la gestación, parto y en el recién nacido.

<b>MADRE</b>	<b>PARTO</b>	<b>NIÑO</b>
<b>AZT v.o.</b> 100 mg 5 veces al día A partir de la 14 semana	<b>AZT i.v.</b> 2mg/kg (bolo inicial) 1mg /kg / hora (infusión continua)	<b>AZT v.o.</b> 2mg /kg/6 horas 6 semanas

**Tabla 20.-** Protocolo ACTG 076.

### IIIB.5.-ASISTENCIA AL PARTO

Desde el inicio de la recogida del material se aplicó el mismo protocolo de asistencia durante el parto y cuidados postnatales en el paritorio. En todo momento primaron las medidas de aislamiento hemático universales. Además, se mantuvo la confidencialidad y el secreto profesional.

#### IIIB.5.1) Medidas Generales

Fue requisito inicial mantener la integridad de la bolsa para evitar el contacto del feto con las secreciones cervicovaginales, por lo que la monitorización de la frecuencia cardíaca fetal y de la dinámica uterina se realizó mediante captadores externos. Quedó proscrita la toma de sangre de calota fetal para la determinación de pH y la aplicación de electrodo espiral para el control de la frecuencia cardíaca fetal, por suponer un riesgo de entrada o contacto del virus. Durante la fase de dilatación se realizó el menor número de exploraciones para evitar con ello el eventual arrastre de virus. Se advirtió, además, que el período de dilatación activa (a partir de los 2 cm) no fuese superior a 6 horas y los pródromos de parto inferior a 12 horas.

Durante la fase de expulsivo se evitó la práctica de una episiotomía o en su defecto, se realizó lo más pequeña y tardía posible para prevenir el contacto de sangre materna con el feto. También se prescribió el uso de fórceps profilácticos, ventosa o espátulas.

Se contraindicó la práctica de anestesia epidural porque puede prolongar las horas de parto, ya por la alteración de la dinámica espontánea, como también por la prolongación del período del expulsivo, además de aumentar de la incidencia de parto instrumental. En cambio, la analgesia se consiguió con *meperidina* (Dolantina®) o *tramadol* (Adolonta®) vía intravenosa o intramuscular según la pauta habitual.

Se cortó el cordón umbilical a unos 10-15 cm del abdomen del recién nacido para poder extraer con facilidad muestras de sangre fetal.

#### IIIB.5.2) Cuidados Farmacológicos Específicos

Se realizaron lavados intravaginales con clorhexidina (Hibitane®) cada 30 minutos, mediante una jeringa de 50 cm<sup>3</sup> de alimentación nasogástrica. Con esto se pretendía la destrucción de los virus que pudieran contaminar el canal del parto.

Se administró AZT en las pacientes incluidas en el protocolo ACTG 076: Retrovir® intravenoso 2 mg/kg de peso en bolo al inicio del trabajo de parto y posteriormente en perfusión continua a lo largo del mismo, Retrovir® intravenoso 1 mg/kg /hora.

En la tabla 21 se describe la metodología de asistencia al parto en nuestro paritorio ante el ingreso de una gestante VIH.

### **ASISTENCIA AL PARTO**

- 1.-No romper bolsa, monitorizar la dinámica uterina con captor externo.
- 2.-No usar electrodo espiral, monitorizar la frecuencia cardiaca fetal con captor externo.
- 3.-No practicar toma de sangre de calota para la determinación de pH.
- 4.-Practicar el mínimo de exploraciones posibles.
- 5.-No realizar episiotomía, en caso de necesidad esta debe ser lo más pequeña y tardía posible.
- 6.-Evitar que el período de dilatación (a partir de los 2 cm) dure más de 6 horas.
- 7.-Evitar los pródromos largos (mayor de 12 horas).
- 8.-Evitar el uso de fórceps profiláctico.
- 9.-Tomar medidas de aislamiento hemático.
- 10.-Cortar el cordón umbilical a unos 10-15 cm del abdomen del recién nacido.

### **FARMACOLOGÍA**

- 1.-Irrigaciones vaginales de Hibitane ® cada 30 minutos con jeringa de 50 cm<sup>3</sup> de alimentación nasogástrica.
- 2.-Administración de Retrovir ® según siguiente pauta:
  - Bolo intravenoso inicial en el momento de inicio del parto: 2mg/kg de peso.
  - Perfusión continua de 1mg/kg/hora. Cargar jeringuilla de perfusión digital y ajustar esta en función del peso de la gestante, teniendo en cuenta que cada mililitro contiene 10 mg de fármaco.
- 3.-Analgésia con Dolantina ® o Adolonta ® IM o IV según pauta habitual.

**Tabla 21.-** Protocolo de asistencia al parto ante una gestante VIH en nuestro paritorio.

#### IIB.5.3) Indicación de cesárea

En nuestro protocolo de asistencia al parto de paciente portadora VIH no se contempla el parto electivo por cesárea. La indicación de cesárea se puede establecer de forma electiva por las mismas causas que en la población global de gestantes, pero no por ser portadora VIH.

Durante el parto la indicación viene dada por las causas obstétricas habituales. En la población VIH con independencia de la paridad se tienen en cuenta las siguientes indicaciones: 1. Rotura de bolsa de más de 6 horas de evolución sin que exista parto vaginal inminente; 2. Pródromos de parto prolongado (más de 12

## *Material y Método*

horas); 3. Fase de dilatación activa del parto superior a 6 horas; 4. Valores de Antígeno p24 elevados al término del embarazo.

### IIIC.-CONTROL NEONATAL DEL RECIÉN NACIDO

En las pacientes sometidas a tratamiento antirretroviral se cumplimentó el protocolo neonatal ACTG 076 administrando el AZT durante las 6 primeras semanas (2mg/kg/6 horas). En el Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Canarias se llevó a cabo un seguimiento de forma confidencial de estos niños mediante la evaluación clínica del desarrollo cada tres meses (peso, talla, circunferencia cefálica, sintomatología), solicitándose de manera seriada las determinaciones analíticas descritas en la tabla 22.

<b>ANALÍTICA GENERAL</b> ( al nacimiento, 6, 12 y 18 meses) Hemograma Tiempo Protrombina Glucemia basal y postprandial BUN, GOT, GPT, GGT LDH, CPK, FA Sedimento y Anormales-Urocultivo Proteinograma: Albúmina, Globulina y Albúmina/Globulina	<b>DETERMINACIONES SEROLÓGICAS</b> (al nacimiento, 6, 12 y 18 meses) VDRL y FTA Ac Listeriosis Ac Toxoplasmosis Ac Citomegalovirus Ac Rubeola HBSAg HBSAc, HBcAc Ac Hepatitis C Ac VIH (Elisa)
(al nacimiento, 6,12 y 18 meses) <b>PCR VIH</b>	
<b>MARCADORES DE PROGRESIÓN</b> (cada tres meses) CD4, CD8 y CD4/CD8 β-2 microglobulina Inmunoglobulinas: Ig A, Ig E, Ig M, Ig G	

**Tabla 22.-** Protocolo analítico a partir del nacimiento del niño.

La administración, o no, de tratamiento antirretroviral en la población de recién nacidos, queda reseñada en la tabla 23 tal como fue su aplicación durante la gestación, intraparto y postparto.

	ACTG (N)	Terapia combinada (%)	No AZT (N)
<b>Durante la gestación</b>	12	2	14
<b>Intraparto</b>	14	-	14
<b>Postparto</b>	10	-	18

**Tabla 23.-** Distribución del protocolo ACTG en los recién nacidos.

#### **IV.-METODOLOGÍA: TÉCNICAS ANATOMOPATOLÓGICAS Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR**

##### **IVA.-PROTOCOLO GENERAL DE RECOGIDA DE PLACENTAS**

Una vez que se produce el alumbramiento de la placenta se lava abundantemente con suero fisiológico la cara materna para eliminar restos de sangre de la madre. En primer lugar se toman dos fragmentos placentarios de aproximadamente 2x2x1cm de la superficie placentaria que se introducen en un recipiente con cierre hermético en solución de paraformaldehído con tampón fosfato (en la tabla 24 se muestra la fórmula de preparación de esta solución), esta es la forma de recogida de muestra para la técnica de hibridación *in situ*. En ningún caso transcurrieron más de 12 horas desde la recogida de la muestra de placenta hasta su procesamiento para hibridación *in situ*. Posteriormente se extrae otro fragmento de unos 4 cm<sup>2</sup> que, desde la cara materna, ocupa todo el espesor placentario (incluyendo la membrana amniótica) y se conserva en un recipiente con solución de formol al 4% para enviar a estudio anatomopatológico convencional. Cada muestra queda etiquetada con el nombre de la paciente y la hora en que se recogió la misma y se conserva en refrigeración en nevera, nunca en congelación, hasta que puedan ser enviadas para su procesamiento definitivo.

##### **Instrucciones para la preparación de paraformaldehído con tampón fosfato**

- 1º) Pesar 4 g de PFA (Paraformaldehído).
- 2º) Disolver en 80 ml de H<sub>2</sub>O (alrededor de 50- 60°C).
- 3º) Añadir 1 ml de NaOH (1N) (DISOLVER EN AGITADOR).
- 4º) Añadir 10 ml de PBS concentrado 10x.
- 5º) Ajustar pH a 7.4 +/- 0.2.
- 6º) Envasar a 100 ml con H<sub>2</sub>O.
- 7º) Conservar congelado.

**Tabla 24.** -Fórmula de preparación de la solución de PFH para hibridación *in situ*.

##### **IVB.-ANATOMÍA PATOLÓGICA**

En el Departamento de Anatomía, Anatomía-Patológica e Histología del Hospital Universitario de Canarias se realizó el estudio anatomopatológico de cada una de las placentas a término de las gestantes que continuaron con el embarazo y en las interrupciones de embarazo los fetos junto con su estructura placentaria.

**IVB.1.-PLACENTAS A TÉRMINO**

El material utilizado para estudio anatomopatológico es un fragmento que ocupa todo el espesor placentario y que llega fijado en formol tamponado al 4%. La muestra se dispone en su totalidad en bloques de parafina para posteriormente poder realizar cortes mediante el criotomo automático de 3 micras, los cuales se exponen en portas convencionales donde se les aplica la técnica de hematoxilina eosina (en la tabla 25 se describe la técnica de hematoxilina eosina). Una vez llegado a este punto, pasamos a su estudio bajo microscopio óptico convencional mediante lentes de 10, 30 y 40 aumentos. Las variables estudiadas se exponen en la tabla 26.

<p><b>SOLUCIÓN A</b> Hematoxilina en polvo: 5 g Alcohol absoluto: 50 cm<sup>3</sup> <i>El alumbre se disuelve en caliente. A las 24 horas se mezclan las soluciones y agregan 2.5 gramos de óxido rojo de mercurio. Se hierve treinta minutos y se coloca en un matraz destapado, el cual se introduce en agua fría</i></p>	<p><b>SOLUCIÓN B</b> Alumbre potásico cristalizado: 100g Agua destilada: 800 cm<sup>3</sup></p>
<p><b>EOSINA: TÉCNICA</b> Eosina: 2g, Agua destilada: 160 cm<sup>3</sup>, Alcohol de 96%: 640 cc y ácido acético: 9 gotas. *Desparafinar e hidratar. *Hematoxilina de Harris (2minutos). *Agua corriente. *Eosina (2 minutos). *Alcohol 90%, 96%, 100%. *Carboxilol, xilol. *Montar en "Enkitt".</p>	
<p><b>PREPARACIÓN DE LA HEMATOXILINA DE GROAT</b></p>	
<p><b>SOLUCIÓN A</b> Ácido Sulfúrico Concentrado: 8 cm<sup>3</sup> Alumbre de hierro (férrico): 1 gramo Agua destilada: 50 cm<sup>3</sup></p>	<p><b>SOLUCIÓN B</b> Hematoxilina 0.5: gramos Alcohol 96%: 50 cm<sup>3</sup></p>
<p><i>Una vez disueltas, se dejan enfriar y reposar una hora, se mezclan y se filtran. Duración: 3 meses.</i></p>	

**Tabla 25.-** Describe la preparación de la técnica de hematoxilina eosina de Harris.

**Variables estudiadas mediante anatomía patológica en las placentas a término**

- 1.-Villitis leucocitaria
- 2.-Villitis necrotizante
- 3.-Vasculitis
- 4.-Corionitis
- 5.-Calcificaciones
- 6.-Necrosis
- 7.-Infartos
- 8.-Aumento de la membrana basal
- 9.-Aumento de las células de Hofbauer

**Tabla 26.-** Variables anatomopatológicas en las placentas a término.

IVB.2.-FETO Y ESTRUCTURA PLACENTARIA DE LAS INTERRUPCIONES VOLUNTARIAS DE EMBARAZO

IVB.2.1) Estudio del feto o embrión

Se inicia el estudio macroscópico con un examen externo de la configuración anatómica para descartar o confirmar la presencia de malformaciones. Posteriormente se continúa con un examen interno describiendo cada una de las vísceras teniendo en cuenta tanto la localización, configuración y el peso de las mismas.

Dentro del estudio microscópico se toman muestras de las vísceras y se aplica de forma rutinaria la técnica de hematoxilina eosina.

IVB.2.2) Estudio de la estructura placentaria

Durante el examen macroscópico se toman medidas y peso de la placenta. Se realiza una valoración externa de la cara fetal (junto con el cordón umbilical) y cara materna. Posteriormente se toman muestras de membranas coriales, áreas placentarias representativas y cordón umbilical para el estudio microscópico. Las muestras histológicas obtenidas siguen la técnica de la hematoxilina eosina. Igualmente las variables estudiadas fueron la presencia o ausencia de: villitis (leucocitaria o necrotizante), necrosis o infarto, calcificaciones, corionitis, vasculitis, aumento de la membrana basal y aumento de las células de Hofbauer.

IVC.-HIBRIDACIÓN *IN SITU* (HIS)

En el laboratorio de Biología Molecular adscrito a la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Canarias se realizaron las HIS. Se seleccionaron fragmentos placentarios de unos 2x2x1cm<sup>3</sup>, que fueron fijados en 4%

paraformaldehído durante <12 horas hasta su procesamiento, e incluidos en parafina. Los cortes histológicos se recogieron en portas recubiertos de adhesivo (APS).

Con respecto a las sondas moleculares utilizadas, partimos de la clona pENV-3 (*Genetic Systems Corporation*, distribuida por American Type Culture Collection), que contiene 520 bp de la región codificante del gen *env3*. Este ADN fue aislado y subclonado, utilizando los sitios de clonación definidos por los enzimas HindIII y BamHI, en el vector de expresión pSKII, que permite generar tanto sondas “sense” (útiles como control) como sondas “antisense”, merced al uso de dos promotores de ARN polimerasas (T3 y T7) situados a ambos lados del sitio de clonación. En las siguientes tablas se recogen los pasos a seguir en la técnica de hibridación *in situ* mediante sondas cARN (tabla 27, 28 y 29).

Para el análisis del VIH en cortes tisulares de placenta, hemos decidido usar sondas de ARN marcadas radiactivamente, por ser estas las de mayor actividad específica, y, por tanto, de más sensibilidad. Para generar sondas de ARN, en primer lugar hemos de clonar el ADN en un vector de expresión, que contenga promotores fuertes para llevar a cabo una transcripción *in vitro* usando ARN polimerasa comercial. Tras verificar la secuencia de la nueva clona pENV-3pSKII (secuenciación manual con Sequenase), se procedió a la preparación de plásmido en gran escala, según protocolos convencionales. Finalmente, el plásmido fue linearizado con enzimas de restricción situados al otro lado del promotor que iba a ser usado para la transcripción. Una vez purificado mediante extracción fenólica y precipitación con etanol, 1 µg de plásmido se usa en la transcripción *in vitro* en presencia de nucleótidos, uno de ellos marcado radiactivamente.

Todas las soluciones usadas antes de la hibridación han de estar libres de RNasa, y se ha de usar agua tratada con DEPC al 0.1% en lugar de agua destilada corriente. En los pasos siguientes no son necesarias estas precauciones.

**Solución de Prehibridación (10ml)**

- 2.5 ml Buffer 4x NaCl 3M
- Pipes 100 mM / EDTA 100 mM
- 5 ml formamida
- 0.2 ml 50X Denhardt
- 1 ml 1M DTT
- 0.2 ml 10% SDS
- 0.3 ml 10 mg/ml ADN salmón (desnaturalizado)
- 0.8 ml agua-DEPC

**INCLUSION DEL TEJIDO:**

- \*Fijación de la pieza en 4% PFA/PBS pH 7.4, 2 h o lo necesario, con agitación periódica.
- \*Lavar en PBS 5 minutos, con agitación.
- \*EtOH 75%, 15 minutos, con agitación.
- \*EtOH abs. 15 minutos, con agitación.
- \*Xilol 15 minutos, 3 veces.
- \*Xilol/parafina 50%, 15 minutos, en baño a 58°C. Hacer bloque.

**PRETRATAMIENTO DE LOS PORTAS: Para todo esto usar recipientes estériles (libres de RNasas).**

- \*Lavarlos en 0.5 % SDS, 10 minutos.
- \*1 mM ATA (Sigma A0885), 5 minutos.
- \*Lavar con acetona pura, 5 minutos.
- \*Tratar con 2% APS (Sigma A3648) en acetona, 5 minutos.
- \*Enjuagar en agua destilada tratada al 0.1% DEPC (Sigma D5758) autoclavada, 2-3 minutos y dejar secar en sitio libre de polvo.

**DESPARAFINADO:**

- \*Hacer secciones de la pieza a 5 µm, colocarlas en baño con 1mM ATA y superponer los cortes.
- \*Fijar los cortes al porta en estufa a 60°C, 1 hora y pasar al congelador hasta el siguiente día.
- \*Sacar del congelador, y estufa a 45°C, 1 hora.
- \*Desparafinar (xilol 20 min x 2, Alcohol abs 5 minutos, PBS (preparado con agua DEPC) 5 minutos, escurrir y secar.

**PREHIBRIDACION:**

- \*Cubrir los cortes (en cámara húmeda, que contiene 2X SSC como buffer) con 1µg/ml Proteinasa K, 50 mM Tris, 5 mM EDTA, 37-40°C, 10 minutos; 50 mM Tris Cl, pH 7.4; 5 mM EDTA y 1 µg/ml proteinasa K. Luego escurrir.
- \*Enjuagar en cubeta con solución de 2 mg/ml Glicina en 2X SSC tratado con DEPC.
- \*Cubrir con 4% PFA en PBS, 5 minutos (postfijación).
- \*Enjuagar con solución de Glicina/2X SSC, 2 veces.
- \*Enjuagar con 0.2 X SSC, 5-10 minutos.
- \*Ecurrir y secar bien cada porta. Cubrir con *solución de prehibridación* en cámara húmeda, cerrar la cámara bien humedecida dejar 1 hora a 45°C.

**Tabla 27.-** Técnica de hibridación *in situ* con sondas cARN: pasos iniciales.

**HIBRIDACION:**

**Solución de hibridación (8.9 ml):**

2.5 ml buffer 4X  
5 ml formamida  
0.2 ml 50X Denhardt  
1 ml 1M DTT  
0.2 ml 10% SDS  
0.45 g sulfato de dextrano (Sigma D6001)

\*A 890  $\mu$ l solución hibridación añadir 10  $\mu$ l  $^{35}$ S-sonda (1-3 ng  $^{35}$ S-RNA) y 100  $\mu$ l agua-DEPC, mantener en baño a 70°C mientras se va echando a los portas.

\*Cubrir los portas con  $\approx$  180  $\mu$ l de sonda c/u, en cámara húmeda. (Precaución con el  $^{35}$ S).

\*Poner cubreobjetos con cuidado de no dejar burbujas.

\*Dejar incubando 16 horas, en las cámaras bien humedecidas, a 45°C, cubrir las cámaras con bolsas bien selladas para evitar deshidratación.

**LAVADOS POST-HIBRIDACIÓN: (en cubetas de tinción)**

*Esta parte de la técnica conviene hacerla en un espacio físico diferente de donde se lleva a cabo los pasos previos, y, sobre todo, ha de utilizarse cubetas diferentes. Hay que evitar, en definitiva la contaminación del material usado en los pasos previos a la hibridación con RNasa.*

\*4X SSC, 15-30 min, hasta que salga el cubre por sí solo (ojo, este buffer queda radiactivo).

\*Tratamiento con RNasa: Incubar con 25-50  $\mu$ g/ml RNasa A, a 37 °C, 30 minutos, de ahí tomar 10 ml y añadir 50  $\mu$ l de RNasa A 10 mg/ml.

**Preparación:**

50 ml de buffer TENT

6.25 ml NaCl 4M

0.5 ml Tris HCl, pH 8, 1M

0.1 ml EDTA 0.5M

1 ml tiosulfato 0.5M

\*Lavar con buffer TENT 30 min, temperatura ambiente.

\*Lavar con 2X SSC, 10 mM tiosulfato, 30 minutos, temperatura ambiente.

Cambiar la solución de lavado a los 15 minutos.

\*Lavar con 0.1X SSC, 10 mM tiosulfato, 30 minutos a 50°C.

**Tabla 28.-** Proceso de hibridación, posthibridación en la técnica de HIS con sondas cARN.

**DESHIDRATACION:**

Pasar los portas por soluciones de etanol de concentración creciente (75%, 95%, 100%, 100%), 2 minutos en cada paso. Dejar secar a continuación, preferiblemente en campana de vacío.

**EXPOSICION (durante 7-10 días):**

\*De baja resolución (panorámica): se colocan los portas en un *casette* de autorradiografía, en cámara oscura, y se pone una placa radiográfica de alta sensibilidad (Kodak BioMax, si es posible, o X-Omat AR, en su defecto), y se expone durante alrededor de 2 días. Transcurrido este tiempo, se revela la placa, y podemos comprobar: si el experimento funcionó adecuadamente, antes de pasar a la fase de emulsión líquida, más tediosa y cara, y en caso positivo la distribución tisular del transcrito de interés.

\*De alta resolución (microscópica): se cubre con emulsión fotográfica líquida NTB-2 (diluida al 50% con agua destilada), a 45°C y a total y absoluta oscuridad. Los portas han de mojarse en un alícuota de NTB-2 en un recipiente de pequeño volumen (las cajitas plásticas que se usan para enviar 5 portas son perfectas para este fin, porque 10 ml de emulsión alcanzan un nivel alto en las mismas, lo que garantiza que el tejido va a ser cubierto totalmente por la emulsión). Los portas se dejan drenar sobre toallas de papel, semi-verticalmente (a un ángulo de unos 75°C es bueno), durante más de 15 minutos en total oscuridad.

*Una vez los portas secos, se colocan en cajas de preparaciones de cierre hermético, incluyendo una bolsita de material secante. Es importante que la emulsión esté bien seca durante la exposición, porque la emulsión húmeda es menos sensible a las partículas beta.*

**REVELADO:**

\*Revelador D-19, 2.5 minutos.

\*Lavar con agua.

\*Fijador Rapidfix, 5 minutos.

\*Agua, lavar bien.

\*Contrastar si se quiere con hematoxilina (muy suave) o verde de metilo, pero evitar el uso de eosina, ya que impregna la emulsión fotográfica.

Finalmente, los portas son contrastados con una tinción suave de hematoxilina, deshidratados, montados y analizados al microscopio.

**Tabla 29.-** Exposición y revelado del material.

## **V.-METODOLOGÍA DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS ESPECÍFICAS**

### **VA.-CITOMETRÍA DE FLUJO PARA ESTUDIO DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS**

En el laboratorio Hematología del Departamento de Medicina Interna se realizó la determinación seriada de las subpoblaciones linfocitarias.

Tradicionalmente el método e identificación de las subpoblaciones de linfocitos T mediante anticuerpos monoclonales (AcMo) consistía en una técnica de inmunofluorescencia indirecta, es decir, las células se incuban previamente con el AcMo, en un segundo paso con fluorocromo y, finalmente, el recuento celular se realizaba con un microscopio de fluorescencia. Desde 1983 se puede proceder al inmunofenotipaje de una gran variedad de células y tejidos (sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, efusiones y cualquier tejido sólido), a través del citómetro de flujo.

La citometría de flujo emplea una técnica de inmunofluorescencia directa, es decir, la población celular objeto de estudio se incuba con uno o varios AcMo previamente conjugados con distintos fluorocromos, y a través de un sistema de fluidos se consigue que las células intercepten una a una con un rayo láser. Posteriormente, tres detectores se encargan de recoger la luz dispersa resultante de dicha intercepción, así como la fluorescencia emitida por las células. Estos detectores son: 1) Detector de dispersión delantera o “forward scatter”, que informa del tamaño de la célula; 2) Detector de dispersión lateral o “side scatter”, que informa sobre el contenido granular y el grado de complejidad celular, y 3) Detectores de fluorescencia, generalmente tres, que captan longitudes de onda correspondientes al verde (fluoresceína), al rojo (ficoeritrina) y a un tercer fluorocromo (rojo-texas, rodamina, etc.). Con los detectores de dispersión se pueden seleccionar las células presentes en la muestra por sus características físicas, es decir, tamaño y estructura interna o complejidad (linfocitos, monocitos, granulocitos, hematíes, células hematopoyéticas, células tumorales, etc.). Con los detectores de fluorescencia se pueden definir poblaciones y subpoblaciones celulares.

La información recibida por estos detectores es manipulada por un sistema electrónico y por un sistema de manejo de datos, finalmente analizados y expresados mediante un soporte informático a través de diferentes programas de “software”. Para el caso de las subpoblaciones linfocitarias, la muestra celular a partir de sangre periférica se trata de forma que se destruyan los hematíes y sólo queden células nucleadas, y éstas se incuban con dos anticuerpos monoclonales conjugados previamente con distintos fluorocromos, en concreto, los anticuerpos anti-CD4 con fluorocromo verde y los anti-CD8 con fluorocromo rojo. La muestra se pasa posteriormente por el citómetro y seleccionamos la población correspondiente a los linfocitos a partir de la discriminación que hace el aparato de tamaño y complejidad celulares. Los linfocitos CD4 emitirán fluorescencia verde y los linfocitos CD8

fluorescencia roja, y así podremos finalmente identificar y cuantificar ambas subpoblaciones de linfocitos T.

Las determinaciones de las subpoblaciones de linfocitos T se han realizado en sangre total mediante técnicas de inmunofluorescencia directa se expone en la tabla 30 se exponen los pasos que se llevan a cabo en todas las muestras.

**DETERMINACIÓN DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS**

- 1.-Se incuban 100 lambdas de sangre total más 10 lambdas del anticuerpo monoclonal Dako ® durante media hora a temperatura ambiente.
- 2.-Eritrolisis con IMMUNOPREP ®:
  - Agente lisante, que se añade a la muestra de sangre total para eliminar las células rojas.
  - Agente estabilizador de leucocitos, para mantener intactas forma y estructura.
  - Agente fijador, encargado de fijar la membrana celular de los leucocitos.
- 3.-Procesamiento de la muestra mediante un equipo Coulter Q-Prep ®, que dispensa de forma automática y secuencial las cantidades exactas requeridas de cada uno de estos agentes.
- 4.-Se procesa la muestra tratada por un citómetro de flujo Epics Profile II ® provisto de un láser de argón.

**Tabla 30.-** Descripción de la técnica de medida de las subpoblaciones linfocitarias.

**VB.-METODOLOGÍA DEL TEST DE WESTERN-BLOT**

En el laboratorio del Departamento de Medicina Preventiva y Social, Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital Universitario de Canarias se realizó la técnica de confirmación del VIH-1 de Western-Blot (WB).

El virus VIH-1 parcialmente purificado se inactiva por tratamiento con psoralen y luz ultravioleta, y rotura por detergente. Las proteínas específicas del VIH-1 se fraccionan según sus pesos moleculares por electroforesis sobre bloque del gel de poliacrimida en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS). Las proteínas del VIH-1 separadas se transfieren desde el gel, por blotting electroforético, a una membrana de nitrocelulosa en la cual también se incluye un péptido sintético específico del VIH-2 y una banda de anticuerpo anti-humano que sirve como control de adición de la muestra. La membrana entonces se lava, bloquea (para minimizar la unión de inmunoglobulinas específicas), corta y empaqueta. Las tiras individuales de nitrocelulosa se incuban con las muestras y controles. Si la muestra tuviera anticuerpos anti-VIH, estos se unirán a los antígenos virales ligados a la tira de nitrocelulosa. Se vuelven a lavar las tiras para eliminar el material no ligado. Se consigue visualizar “*in situ*” las inmunoglobulinas humanas específicamente ligadas a las proteínas del VIH-1 por medio de una serie de reacciones con Ig G de cabra anti-Ig G humana conjugada con fosfatasa alcalina y el sustrato 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato. Si en la muestra existe una concentración suficiente de anticuerpos

frente a cualquiera de los principales antígenos de VIH-1 en la tira de nitrocelulosa, se apreciarán las bandas correspondientes a la posición de una o más de las siguientes proteínas (p) o glicoproteínas (Gp) del VIH-1: p17, p24, p31, p41, p51, p55, p66, Gp120, Gp160 (el número se refiere al peso molecular aparente en kilodaltons). Este proceso se encuentra automatizado en el servicio de microbiología. Se realiza a través de un kit, bioblot VIH-1 plus®. Se trata de un ensayo cualitativo *in vitro* para la detección e identificación de anticuerpos Ig G frente al Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) que, además, permite detectar muestras sospechosas de VIH-2.

El bioblot VIH-1 plus ® es un kit de “Western Blot” (técnica de Blot de inmunoelectrotransferencia Ligada a Enzimas) que combina en una misma tira antígenos de VIH-1 derivados del virus y un péptido sintético de VIH-2. Cada tira incluye un control de adición de la muestra (anticuerpo anti-humano). En la tabla 32 se recogen los componentes y la forma de recogida de las muestras.

Este kit se destina como prueba adicional de confirmación para muestras repetidamente reactivas en un test de *screening*. Los posibles perfiles serológicos definidos por el bioblot VIH-1 plus ® son los siguientes: Positivo de VIH-1, Positivo de VIH-1 y Sospechoso de VIH-2, Negativo, Indeterminado e Indeterminado pero Sospechoso de VIH-2. La detección de anticuerpos Ig G contra el VIH no constituye un diagnóstico del SIDA. Sólo se podrá hacer un diagnóstico clínico de SIDA cuando la persona cumpla la definición establecida por los Centros de Control de Enfermedades de Atlanta.

Además, debe llevar un control de calidad para cada operación realizada. Hay que incluir Control Negativo y un Control Positivo Fuerte en cada operación, independientemente del número de muestras analizadas o de las Tiras de Nitrocelulosa utilizadas. El Control Positivo Fuerte se utilizará para establecer criterios de reactividad de las bandas. El Control Positivo Débil proporciona una medida de la sensibilidad del Kit y se recomienda probarlo al menos en la primera operación con muestras con cada kit. El proceso de control de calidad se recoge en la tabla 31.

#### **Determinación del Control de Calidad**

**Control Negativo:** La única banda visible en la Tira de Nitrocelulosa utilizada para probar el Control Negativo debe ser la de control de muestra.

**Control Positivo Fuerte:** Deben ser visibles todas las bandas de peso molecular relevante del VIH-1 sobre la Tira de Nitrocelulosa usada para analizar el Control Positivo Fuerte. Esas bandas son p24, p31, Gp41, p51, p55, p66 y Gp 120/160. Puede verse también una banda p17, pero no es indispensable para que los resultados sean aceptables. La banda de control de muestra debe ser visible. La banda específica de VIH-2 debe ser visible.

**Control Positivo Débil (CPD):** La tira de nitrocelulosa utilizada para analizar el CPD, debe presentar bandas en p24 y en Gp160. Pueden aparecer bandas adicionales débiles, que no son necesarias para considerar los resultados como aceptables.

**Tabla 31.-**Descripción de la determinación del control de calidad para el WB.

**COMPONENTES:**

- 1.-Tiras de Nitrocelulosa: 18 tiras de nitrocelulosa que contienen polipéptidos antigénicos separados, procedentes de VIH-1 inactivado, un péptido sintético específico del VIH-2 y un anticuerpo anti-humano. Las tiras están numeradas consecutivamente del 1 al 18, o del 19 al 36.
- 2.-Control Negativo: 1x 80 microlitros de suero humano inactivado negativo en anticuerpos anti-VIH-1 y anti-VIH-2 y en antígeno de superficie de la hepatitis B. Contiene ácido sódico y merthiolato sódico.
- 3.-Control Positivo Fuerte: 1 x 80 microlitros de suero humano inactivado conteniendo un elevado título de anticuerpos Ig G frente al VIH-1 y al VIH-2. Negativo en antígeno de superficie de la hepatitis B. Contiene ácido sódico y merthiolato sódico.
- 4.-Control Positivo Débil: 1 x 80 microlitros de suero humano inactivado conteniendo un título de anticuerpos Ig G frente al VIH-1 y negativo en anticuerpos frente al VIH-2. Negativo en antígeno de superficie de la hepatitis B. Contiene ácido sódico y merthiolato sódico.
- 5.-Solución de lavado: 1 x 70 mililitros de tampón Tris Concentrado (20x). Contiene Tween 20 y merthiolato sódico.
- 6.-Tampón de blotting: 1 x 20 mililitro de tampón Tris Concentrado (10x). Contiene suero de cabra normal inactivado por calor y merthiolato sódico.
- 7.-Conjugado: 1 x 120 microlitro de anticuerpos Ig G de cabra anti-Ig G humana conjugados con fosfatasa alcalina. Contiene ácido sódico y merthiolato sódico.
- 8.-Sustrato: 1x 120 mililitro de solución de 5 bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato (BCIP) y azul de nitrotetraazolio (NBT).
- 9.-Polvo de blotting: 10 x 1 gramo de leche descremada en polvo.
- 10.-Bandejas de incubación: 2 bandejas de incubación de 9 pocillos.

**RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS:**

- 1.-El kit bioblot HIV-1 plus ® puede ser utilizado con suero o plasma. Se desconoce la fiabilidad de los resultados del test cuando se utilizan muestras lipémicas, hemolizadas o turbias.
- 2.-Inactivar las muestras antes de utilizarlas, calentándolas a 56°C durante 30 minutos en baño de agua.
- 3.-Antes de emplearse, las muestras se pueden mantener a 2-8°C durante un máximo de 1 semana. En caso contrario deben congelarse.
- 4.-Evitar la congelación y descongelación repetidas de las muestras.
- 5.-Mezclar bien las muestras. Centrifugar si fuera necesario para eliminar partículas, antes del análisis.
- 6.-Si las muestras deben ser transportadas, se tomarán las precauciones necesarias para agentes infecciosos.

**Tabla 32.-** Descripción de los componentes y modo de recolección de muestras en la técnica de Western-Blot.

#### **VC.-METODOLOGÍA DE DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO P24**

En el laboratorio del Departamento de Medicina Preventiva y Social, Servicio de Microbiología y Parasitología se realizó la determinación del antígeno p24.

El antígeno p24 es un marcador virológico que es detectado durante la fase aguda de la infección y en la fase de SIDA ( $<200 \text{ CD4/mm}^3$ ) y no se detecta cuando un paciente tiene más de  $500 \text{ CD4/mm}^3$ . Así, su aparición en un paciente asintomático representa un marcador de progresión. Actualmente está siendo sustituido su uso en la clínica diaria por la medida de la viremia plasmática. En la tabla 33 se recoge la preparación llevada a cabo para la medida del antígeno p24.

#### **VD.-CARGA VIRAL**

En la Unidad de Diagnóstico Molecular perteneciente al Laboratorio Central del Hospital Universitario de Canarias se encarga de la detección de la carga viral del VIH. Para ello, el método que utiliza es la RT-PCR (Amplicor HIV®) desde finales de 1996, con una sensibilidad de 400-200 copias/ml. Las tablas 34 y 35 describen la metodología de la técnica empleada.

En nuestro departamento se ha introducido desde 1997 la determinación de la carga viral para el estudio y seguimiento de la población gestante portadora del VIH.

En la población objeto de estudio se analizó únicamente el antígeno p24 ya que la carga viral sólo se ha realizado aproximadamente en el 14.28% de la muestra.

#### **VI.-ESTUDIO ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico se ha utilizado un ordenador personal Accer (procesador Pentium III), una base de datos D base III y el programa estadístico SPSS 10.0.2 para windows.

Para analizar la existencia de significación estadística entre las diferencias de las variables cuantitativas de distribución normal, se han realizado todas las posibles comparaciones entre las medias de los resultados de las variables analíticas de los trimestres gestacionales y el período postparto. Posteriormente fue aplicado el test de la t de Student, considerando como límite de significación estadística un 95% ( $p<0.05$ ).

**ANTÍGENO p24**  
**REACTIVOS**

- \*Los reactivos de Glycina y Tris vienen ya preparados.
- \*Reconstruir el control positivo con 0.5 ml de agua destilada. Dejar 5 minutos en reposo. Es estable 15 días en nevera.
- \*Buffer neutral. Mezclar 2 ml de Glycina con 2 ml de Tris.
- \*Diluyente de muestra (sólo para aquellas muestras que den muy alto). 2 ml de Glycina positiva, 2 ml de Tris positiva y 2 ml de suero humano (NHS, Normal Human Serum).
- \*Diluciones de la curva estándar.

Suero Humano

Estándar

1° TUBO	300 Lambdas	200 Lambdas (Antígeno de 250 pg/ml )
2° TUBO	250 Lambdas	250 Lambdas del TUBO 1°
3° TUBO	250 Lambdas	250 Lambdas del TUBO 2°
4° TUBO	250 Lambdas	250 Lambdas del TUBO 3°
5° TUBO	250 Lambdas	250 Lambdas del TUBO 4°

**PROCEDIMIENTO**

Se realiza una placa de micropocillos normal, sin antígeno. Hay que hacer primero un mapa.

- \*Añadir 30 Lambdas de Lyse Buffer a todos los pocillos que se vayan a usar, excepto al pocillo blanco.
- \*Añadir 100 Lambdas de los estándares en duplicado, en los pocillos previamente establecidos en el mapa.
- \*Añadir 100 Lambdas de muestra, por duplicado, en sus pocillos.
- \*Añadir 100 Lambdas del control positivo (duplicado) y 100 Lambdas de NHS que se ha usado como diluyente y que hace de control negativo.
- \*Añadir 100 Lambdas de Buffer Neutral a los pocillos con Estándar, mezclar bien sin hacer espuma y cambiar de pipetas entre tira y tira.
- \*Añadir 100 Lambdas de Glycina a los pocillos con muestra y con controles (No a los que tienen los Estándares). Mezclar bien sin hacer espuma.
- \*Sellar e incubar 90 minutos a 37°C.
- \*Al cabo de los 90 minutos añadir 100 Lambdas de Buffer Neutral a los pocillos con estándar, mezclar bien.
- \*Añadir 100 Lambdas de Tris a los pocillos con muestra y de control, mezclar bien.
- \*Transferir 200 Lambdas de todos los pocillos a sus correspondientes de la placa de reacción antígeno VIH P24.0.
- \*Sellar e incubar 18–24 horas a 37°C.

**Tabla 33.-** Se describe el procedimiento llevado a cabo para la detección del antígeno p24.

**CARGA VIRAL**

**PREPARACIÓN DE REACTIVOS:**

Añadir 100 microlitros de AmpErase a un vial de Master Mix (32 amplificaciones, Estabilidad 1 mes 4°C). Mezclar invirtiendo el tubo.

**PREPARACIÓN DE MUESTRAS:**

1. Añadir 1.0 ml de Wash Solution a cada tubo de 2.0 ml.
2. Añadir 500 microlitros de sangre total (100 microlitros para muestras pediátricas). Tapar el tubo y mezclar invirtiendo.
3. Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Mezclar invirtiendo el tubo y repetir la incubación otros 5 minutos.
4. Centrifugar los tubos (13.000 g) a temperatura ambiente durante 3 minutos.
5. Deshechar el sobrenadante con cuidado de no alterar el pellet. Añadir 1.0 ml de Wash Solution. Resuspender el pellet por agitación y centrifugar a temperatura ambiente otros 3 minutos.
6. Repetir el paso 5, hasta un total de dos lavados (el pellet no debe tener color).
7. Aspirar el sobrenadante. El pellet seco puede conservarse a  $-70^{\circ}\text{C}$  ó realizarse la extracción de inmediato.
8. Atemperar y mezclar por inversión el Extraction Reagent.
9. Añadir 50 microlitros de los controles en los tubos de 2.0 ml correspondientes.
10. Pipetear 200 microlitros de Extraction Reagent a cada tubo (incluidos los de los controles). Agitar en vortex. Incubar (en seco) durante 30 minutos a  $60^{\circ}\text{C}$ .
11. Incubar los tubos durante 30 minutos a  $100^{\circ}\text{C}$ . Ahora las muestras están listas para la amplificación.
12. Pipetear 50 microlitros de la Master Mix anteriormente preparada, en cada tubo de PCR (tubos del termociclador) y taparlos.
13. Añadir, utilizando puntas de pipeta con filtro, 50 microlitros muestra/controles a los tubos para amplificación (con 50 microlitros de MasterMix). Cerrar los tubos y colocarlos en la gradilla del Termociclador. Llevar la gradilla al Termociclador.

**Tabla 34.-** Metodología de preparación de las muestras en la técnica de determinación de la carga viral.

**AMPLIFICACION**

1. Colocar la gradilla en el Termociclador.
2. Cerrar la tapa sobre la gradilla.
3. Para bloquearla, girar el cierre hasta su posición.
4. Programar el Termociclador según el programa: HOLD: 2 minutos a 50°C; Cycle (5 ciclos): 10 segundos a 95°C, 10 segundos a 55°C, 10 segundos a 72°C; Cycle (30 ciclos): 10 segundos a 90°C, 10 segundos a 60°C, 10 segundos a 72°C; HOLD: 5 minutos a 72°C; HOLD: Siempre a 72°C (máximo 5 horas); METHOD.
5. Pulsar Run Method. La amplificación durará 1 h 30 min.
6. Retirar los tubos del termociclador y quitar las tapas evitando producir aerosoles.
7. Inmediatamente añadir 100 microlitros de Denaturation-Solution a cada tubo. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
8. Si se va a realizar la detección conservar los tubos a temperatura ambiente, no más de dos horas. Si no es así, conservar los amplicones entre 2-8°C hasta realizar la detección.

**DETECCIÓN**

1. Atemperear la microplaca a temperatura ambiente.
2. Añadir 100 microlitros de HIV Hybridization Buffer a cada pocillo de la microplaca.
3. Si las muestras han sido conservadas a 2-8°C, será necesario incubarlas a 37°C durante 2-4 minutos.
4. Pipetear 25 microlitros de las muestras en los pocillos, usando puntas con filtro. Agitar con suavidad la microplaca hasta que el color de los pocillos viren de azul a amarillo.
5. Cubrir la microplaca. Incubar durante 1 hora a 37°C.
6. Lavar los pocillos 5 veces con solución de lavado ( 1 vol de 10X-Wash Concentrate y 9 vol de Agua Destilada) y aspirar finalmente la solución de lavado.
7. Añadir 100 microlitros de Avidin-HRP Conjugate a cada pocillo. Cubrir la microplaca. Incubar durante 15 minutos a 37°C. Repetir los lavados, igual punto 6.
8. Preparar Working Substrate mezclando 2.0 mL de Substrate A con 0.5 mL de Substrate B (para 16 pocillos). Usar la mezcla antes de 3 horas y protegida de la luz.
9. Pipetear 100 microlitros del Working Substrate, antes preparado, a cada pocillo.
10. Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
11. Añadir 100 microlitros de Stop Reagent a cada pocillo.
12. Medir la densidad óptica a 450 nm dentro de la primera hora.

**RESULTADOS**

1. El Cut-off es 0.350 A. Todos los valores de absorbancia superiores se considera positivos. Los valores inferiores a 0.350 A son negativos.
2. El valor del Control Positivo debe ser superior a 2000 A.

**Tabla 35.-** Metodología de amplificación, detección de la técnica de la carga viral y resultados.

## ***RESULTADOS***

---

## **I.- RESULTADOS ANALÍTICOS**

Las variables analíticas estudiadas en términos de valores medios, rango y desviación estándar, fueron determinadas a lo largo del embarazo en distintos períodos de edad gestacional (inferior a 10 semanas, de 10 a 18 semanas, de 18 a 28 semanas, de 28 a 34 semanas y mayor de 34 semanas), en el puerperio inmediato (hasta 48 horas del parto), puerperio tardío (hasta 40 días después del parto) y más de 60 días. En los resultados queda recogido tanto el grupo global de pacientes como de forma diferenciada los grupos que recibieron o no, terapia antirretroviral.

### **IA. -HEMOGRAMA**

Se recogió en el hemograma el valor del hematocrito (HCTO) y la hemoglobina (HB). En las tablas 36 y 37, y en la gráfica 7 se muestran los resultados. Los resultados del análisis estadístico queda reflejado en las tablas 44 y 45.

Observamos que tanto el valor del hematocrito como de la hemoglobina sufre disminución durante el segundo trimestre del que se recupera durante el tercer trimestre, tanto en el grupo global de las gestantes, como si diferenciamos aquellas que reciben terapia antirretroviral de las que no.

### **IB. - BIOQUÍMICA**

Los datos de la bioquímica estudiados fueron la glucosa basal (Glu B), glucosa postprandial (Glu Pp), el nitrógeno ureico (BUN), aspartato aminotransferasa (GOT) y glutámico pirúvico transaminasa (GPT), fosfatasa alcalina (FA), lactato deshidrogenasa (LDH), creatinfosfoquinasa (CPK) y el tiempo de protrombina (T° Protrombina). En las tablas 38 y 39 y en las gráficas 8, 9, 10, 11 y 12 quedan reflejados los valores para el grupo global de pacientes, y de forma independiente el grupo al que se prescribió tratamiento antirretroviral del que no. En las tablas 44 y 45 se muestran los resultados del análisis estadístico.

Tanto los valores de la glucosa basal y postprandial, como del nitrógeno ureico y el tiempo de protrombina mantiene valores estables y dentro de la normalidad a lo largo de la gestación y postparto.

En las aminotransferasas, GOT y GPT, se detecta un ligero aumento al principio del tercer trimestre para volver a la normalidad antes del parto, y sufrir una nueva inflexión hacia arriba en el postparto inmediato.

La fosfatasa alcalina está sujeta a un aumento progresivo a lo largo de la gestación, que se regulariza a los dos meses postparto.

Tanto la creatinfosfoquinasa como la lactato deshidrogenasa presentan cifras dentro del rango de la normalidad en cada uno de los trimestres, detectándose una elevación en el postparto inmediato.

### IC.-PROTEINOGRAMA

Se determinaron las fracciones del proteinograma (Alfa 1, Alfa 2, Beta y Gamma), además de las proteínas totales y la albúmina, a lo largo de la gestación y en el postparto. De forma conjunta para el total de la muestra, y de forma diferenciada, el grupo que recibió terapia antirretroviral del que no. En las tablas 40 y 41, y en las gráficas 13, 14 y 15 se pueden observar los valores. El resultado del análisis estadístico queda reflejado en las tablas 44 y 45.

El valor de la proteinemia total así como las distintas fracciones del proteinograma, se mantuvo constante y dentro de cifras normales a lo largo de la gestación y postparto. Resultados que fueron equiparables tanto para el grupo global de gestantes como para los grupos en los que se diferencia la administración o no de terapia antirretroviral.

### ID.-MARCADORES DE PROGRESIÓN

En cuanto a los marcadores de progresión relacionados con el virus de la inmunodeficiencia adquirida, fueron medidos los linfocitos de forma fraccionada, los CD4 y los CD8, y el índice CD4/CD8, el antígeno p24, la  $\beta$ -2-microglobulina ( $\beta$ -2 microglb), la inmunoglobulina A (IgA), inmunoglobulina G (IgG) y la inmunoglobulina M (IgM), en los tres trimestres del embarazo y en el puerperio (inmediato y tardío). En las tablas 42 y 43 y en las gráficas 16, 17, 18, 19 y 20 se muestran los resultados tanto para el total de pacientes como de forma diferenciada la muestra que recibe tratamiento antirretroviral de la que no. El resultado del análisis estadístico queda reflejado en las tablas 44 y 45.

Las cifras de los niveles de CD 4 y CD 8 muestran un valor ascendente en el tercer trimestre en relación con el primer trimestre, manteniéndose durante todo el embarazo y puerperio por encima de las 400 células/mm<sup>3</sup>.

También la  $\beta$ -2 microglobulina presentó valores estables con un pequeño incremento durante el tercer trimestre, aunque siempre con una cifra inferior a 3 microgramos/ml.

En esta misma línea, el antígeno p24 es detectado en 5 gestantes (17.85%) y sin que aparezca ningún aumento significativo en estos casos, a lo largo de la gestación y postparto.

En cuanto a las inmunoglobulinas, tanto la inmunoglobulina A como la inmunoglobulina E presentan un descenso en el segundo trimestre que se recupera y mantiene estable hasta el final del embarazo y postparto. La inmunoglobulina M sufre un ascenso transitorio en el segundo trimestre que posteriormente se repite en el tercer trimestre persistiendo en el puerperio. Finalmente, la inmunoglobulina G permanece con cifras estables durante el curso de la gestación.

	<10 Semanas n: 15	10-18 Semanas n: 26			18-28 Semanas n: 22			28-34 Semanas n: 24			> 34 Semanas n: 20		
	Total	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>HB (mg/dl)</b>	12.42	11.29	11.16	11.47	10.96	10.8	11.15	10.94	10.19	11.61	10.87	10.56	11.21
<b>Rango</b>	9.7-14.5	9.2-12.7	9.7-12.7	9.2-12.7	8.7-13.2	8.7-13.2	10.2-12.1	8.8-14.4	8.8-11.8	9.6-14.4	9-12.4	9-12.4	9.5-12.4
<b>D.S.</b>	1.42	1.03	0.91	1.22	1.22	1.54	0.82	1.35	0.87	1.39	1.07	1.09	1.01
<b>HCTO (%)</b>	36.61	33.11	32.64	33.7	31.08	30.53	31.73	32.2	30.14	34.03	32.31	31.18	33.6
<b>Rango</b>	28.8-43.8	28.3-37.1	28.3-37	29-37	24.8-36.7	24.8-36.7	28.5-35.2	26.9-43.4	26.9-34.8	26.9-43.4	26.6-36.7	26.7-36.5	26.6-36.7
<b>D.S.</b>	4.44	2.96	2.84	3.22	3.33	2.64	2.68	4.08	2.64	4.37	3.51	3.27	3.56

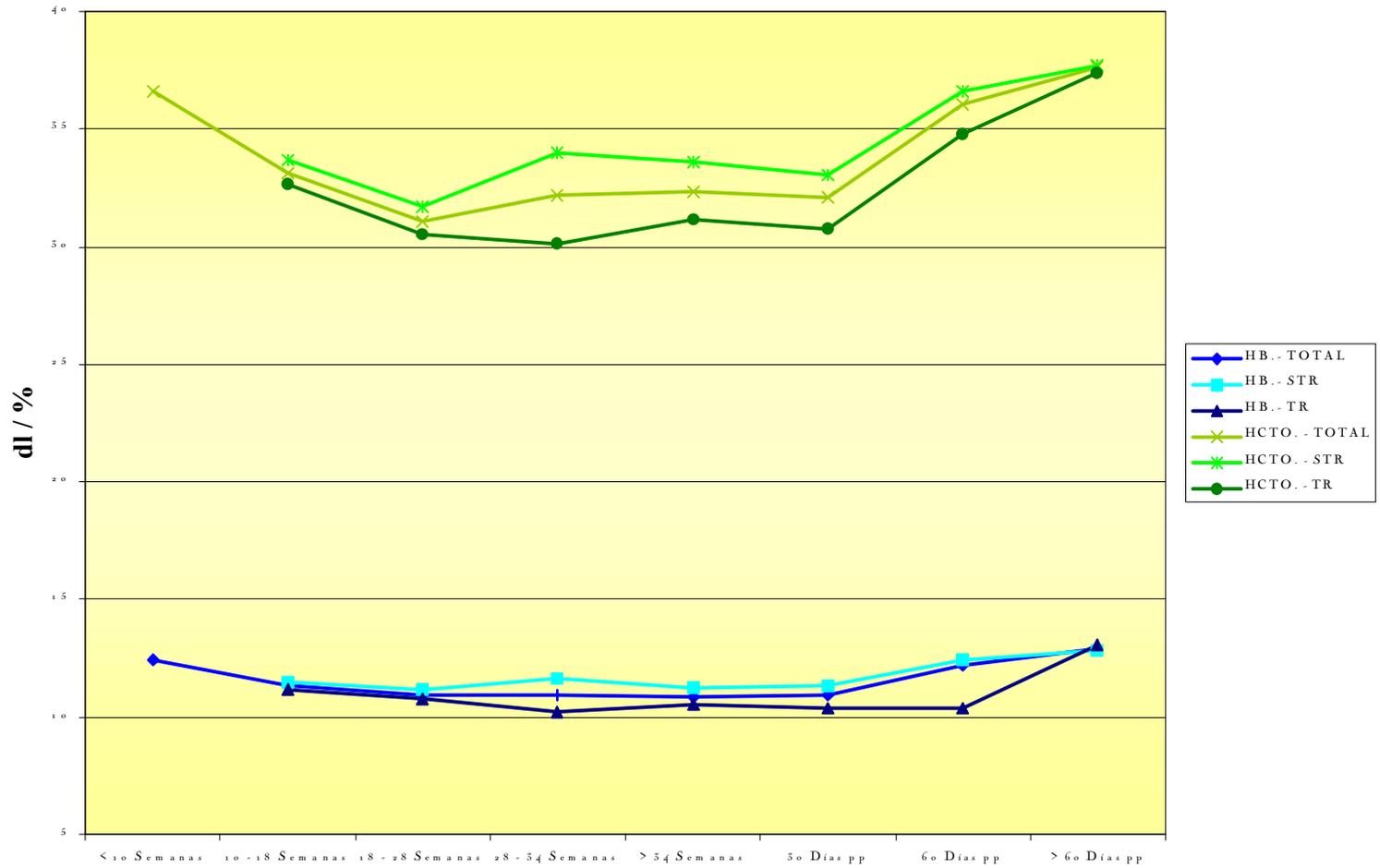
**Tabla 36.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S.) de la hemoglobina (HB) y hematocrito (HCTO) a lo largo de la gestación en toda la muestra (Total), como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto).

	Puerperio Inmediato n: 28			Puerperio Tardío n: 15			> 60 Días n: 12		
	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>HB (mg/dl)</b>	10.9	10.38	11.3	12.16	11.63	12.4	12.88	13.05	12.84
<b>Rango</b>	7.9-14.3	7.9-13.2	9.2-14.3	10.4-14.6	10.5-13.7	10.4-14.6	10.3-14.4	11.9-14.2	10.3-14.4
<b>Desviación estándar</b>	1.55	1.59	1.44	1.34	1.49	1.29	1.44	1.63	1.51
<b>HCTO (%)</b>	32.07	30.75	33.06	36.06	34.78	36.63	37.62	37.40	37.68
<b>Rango</b>	23-41.4	23-39.9	27.1-41.4	29.9-43.5	29.9-41.8	30.3-43.5	30.4-42.9	34.5-40.3	30.4-42.9
<b>Desviación estándar</b>	4.30	4.79	3.74	4.22	5.01	4.01	4.18	4.10	4.48

**Tabla 37.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S.) de la hemoglobina (HB) y hematocrito (HCTO) tras el parto en el grupo global (Total) como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto).



## HEMOGLOBINA / HEMATOCRITO



**Gráfico 7.-**Variación de la Hemoglobina (HB: g/dl) y el Hematocrito (HCTO: %) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



	< 10 Sem n: 15	10-18 Semanas n: 26			18-28 Semanas n: 22			28-34 Semanas n: 24			> 34 Semanas n: 20		
	Total	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>Glu B (mg/dl)</b>	88	78	77	79	76	75	76	77	78	76	76	71	81
<b>Rango</b>	76-107	69-94	69-86	69-94	65-102	69-81	65-102	54-92	67-92	54-91	62-123	62-84	68-123
<b>Desviación estándar</b>	9.4	7.71	6.43	9.2	8.74	4.8	13.29	9.25	8.27	10.25	15.83	7.39	20.66
<b>GluPp (mg/dl)</b>	97	77	83	68	93	100	79	100	95	104	77	75	78
<b>Rango</b>	83-106	64-91	73-91	64-73	54-153	72-153	54-116	81-133	81-109	90-133	67-90	70-80	67-90
<b>Desviación estándar</b>	12.29	11.13	9.45	6.36	32.63	33.15	32.52	15.22	12.6	17.24	10.44	7.07	16.26
<b>BUN (mg/dl)</b>	11	10	11	9	15	20	8	8	9	8.3	9	10	8
<b>Rango</b>	7-19	6-18	7-18	6-12	6-78	6-78	7-10	5-14	7-14	5-12	5-16	7-16	5-12
<b>Desviación estándar</b>	4.17	3.34	4.43	1.86	20.25	26.2	1.30	2.29	2.5	2.26	2.91	3.39	2.5
<b>GOT (U/l)</b>	38	38	35	40	36	47	22	56	56	57	29	30	27
<b>Rango</b>	13-129	15-92	22-60	15-92	16-187	16-187	16-29	12-225	16-225	12-212	10-67	10-67	16-55
<b>Desviación estándar</b>	34.15	21.76	15.31	27.29	44.06	57.17	5.44	67.11	74.89	64.8	17.81	20.13	16.7
<b>GPT (U/l)</b>	42	43	26	56	37	51	18	53	46	60	25	25	25
<b>Rango</b>	7-149	16-183	16-48	17-183	9-258	10-258	9-29	5-221	5-221	6-191	8-76	10-76	8-54
<b>Desviación estándar</b>	49.04	48.39	12.74	63.65	64.43	84.58	8.07	67.21	77.54	61.42	22.81	25.26	22.42
<b>GGT (U/l)</b>	21	30	33	29	20	27	9	25	29	22	30	31	28
<b>Rango</b>	8-65	7-100	11-90	7-100	4-77	4-77	6-12	5-115	9-115	5-84	9-87	16-87	9-76
<b>Desviación estándar</b>	17.85	32.73	38.25	32.39	21.79	26.67	2.30	32.46	38.48	27.85	29.69	31.24	32.26
<b>FA (U/l)</b>	133	123	107	133	156	144	173	244	225	260	358	328	395
<b>Rango</b>	88-223	88-193	85-134	80-193	102-225	102-225	138-209	76-487	122-415	76-487	146-589	146-472	264-589
<b>Desviación estándar</b>	42.24	40.18	24.23	47.3	40.70	44.9	30.3	120.5	101.9	139.4	132.7	134.4	139.6
<b>LDH (U/l)</b>	293	310	334	296	319	370	314	308	314	302	300	297	303
<b>Rango</b>	28-438	205-425	282-413	205-425	249-421	267-465	249-422	250-367	264-357	250-367	219-421	219-339	248-421
<b>Desviación estándar</b>	119.2	67.01	60.54	70.87	46.77	86.84	78.22	37.43	34.65	41.51	59.73	47.42	80.52
<b>CPK (U/l)</b>	49	56	36	69	53	46	63	41	41	41	42	59	25
<b>Rango</b>	24-120	18-222	29-84	18-222	16-100	24-78	16-100	15-98	25-60	15-98	7-124	20-124	7-46
<b>Desviación estándar</b>	27.97	60.05	8.89	76.91	30.96	22.92	42.88	23.33	13.29	31.96	37.03	45.44	19.65
<b>T°Protrombina (%)</b>	94	97	92	100	98	98	100	99	99	99	100	100	100
<b>Rango</b>	49-100	75-100	75-100	100-100	90-100	90-100	100-100	95-100	96-100	95-100	100-100	100-100	100-100
<b>Desviación estándar</b>	15.24	8.84	14.43	0	3.85	4.41	0	1.55	1.51	1.67	0	0	0

**Tabla 38.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S.) de los parámetros bioquímicos estudiados a lo largo de la gestación en toda la muestra (Total) como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto). Sem: semanas.

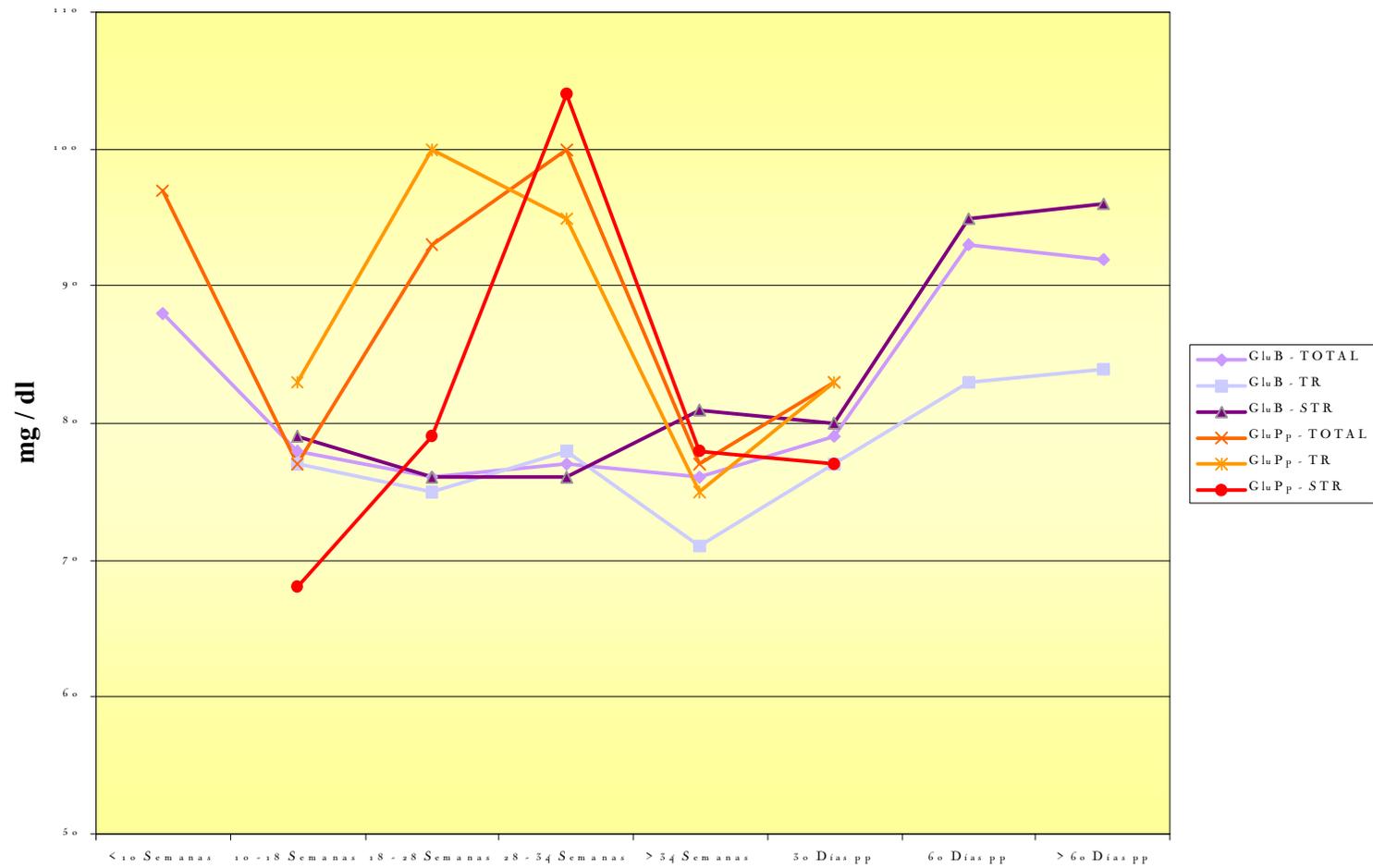


	Puerperio inmediato n: 28			Puerperio Tardío n: 15			➤ 60 Días n: 12		
	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>Glu B (mg/dl)</b>	79	77	80	93	83	95	92	84	96
<b>Rango</b>	59-112	60-99	59-112	74-137	83-85	74-137	77-119	77-88	85-119
<b>Desviación estándar</b>	15.17	12.33	17.39	16.49	0.71	17.73	11.79	5.86	12.17
<b>Glu Pp (mg/dl)</b>	83	83	77						
<b>Rango</b>	66-94	80-94	66-88						
<b>Desviación estándar</b>	14.74	15.74	15.56						
<b>BUN (mg/dl)</b>	11	12	10	13	14	13	13	13	14
<b>Rango</b>	6-21	8-16	6-21	6-22	13-	6-22	8-19	8-15	12-19
<b>Desviación estándar</b>	3.7	2.8	4.12	4.43	15	5.15	3.1	1.63	1.83
					1.15				
<b>GOT (U/l)</b>	31	40	21	57	44	62	60	30	75
<b>Rango</b>	13-79	18-79	13-26	15-170	37-51	15-170	9-253	9-53	17-253
<b>Desviación estándar</b>	19.23	22.59	4.95	53.76	7.02	63.3	76.06	22.03	9.87
<b>GPT (U/l)</b>	21	23	17	67	38	78	58	29	73
<b>Rango</b>	6-51	11-51	6-31	17-229	32-43	32-43	16-272	16-43	16-262
<b>Desviación estándar</b>	11.78	12.89	9.75	75.27	5.69	5.69	81.8	13.58	99.23
<b>GGT (U/l)</b>	26	31	20	28	36	24	24	38	203
<b>Rango</b>	6-106	8-106	6-70	5-76	13-76	5-73	5-92	5-92	119-293
<b>Desviación estándar</b>	25.63	3.99	18.85	25.46	34.77	22.8	26.73	46.93	82.51
<b>FA (U/l)</b>	266	282	249	184	174	188	182	146	351
<b>Rango</b>	115-478	164-466	115-478	106-269	168-179	106-269	105-293	105-174	285-500
<b>Desviación estándar</b>	98.15	93.1	105.68	50.27	5.57	60.88	71.67	36.29	96.15
<b>LDH (U/l)</b>	360	382	330	364	468	312	362	382	
<b>Rango</b>	249-538	301-538	249-476	174-671	350-671	174-430	285-500	315-455	
<b>Desviación estándar</b>	78.22	77.74	72.41	139.23	176.34	94.03	85.16	70.15	
<b>CPK (U/l)</b>	215	320	123						
<b>Rango</b>	19-990	36-990	19-442						
<b>Desviación estándar</b>	281.4	367.44	148.38						
<b>T° Protrombina (%)</b>	98	100	97	96		96			
<b>Rango</b>	88-100	100-100	88-100	85-100		85-100			
<b>Desviación estándar</b>	3.72	0	4.82	7.5		7.5			

**Tabla 39.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S.) de los parámetros bioquímicos estudiados en el postparto en el grupo total de la muestra (Total), como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto).



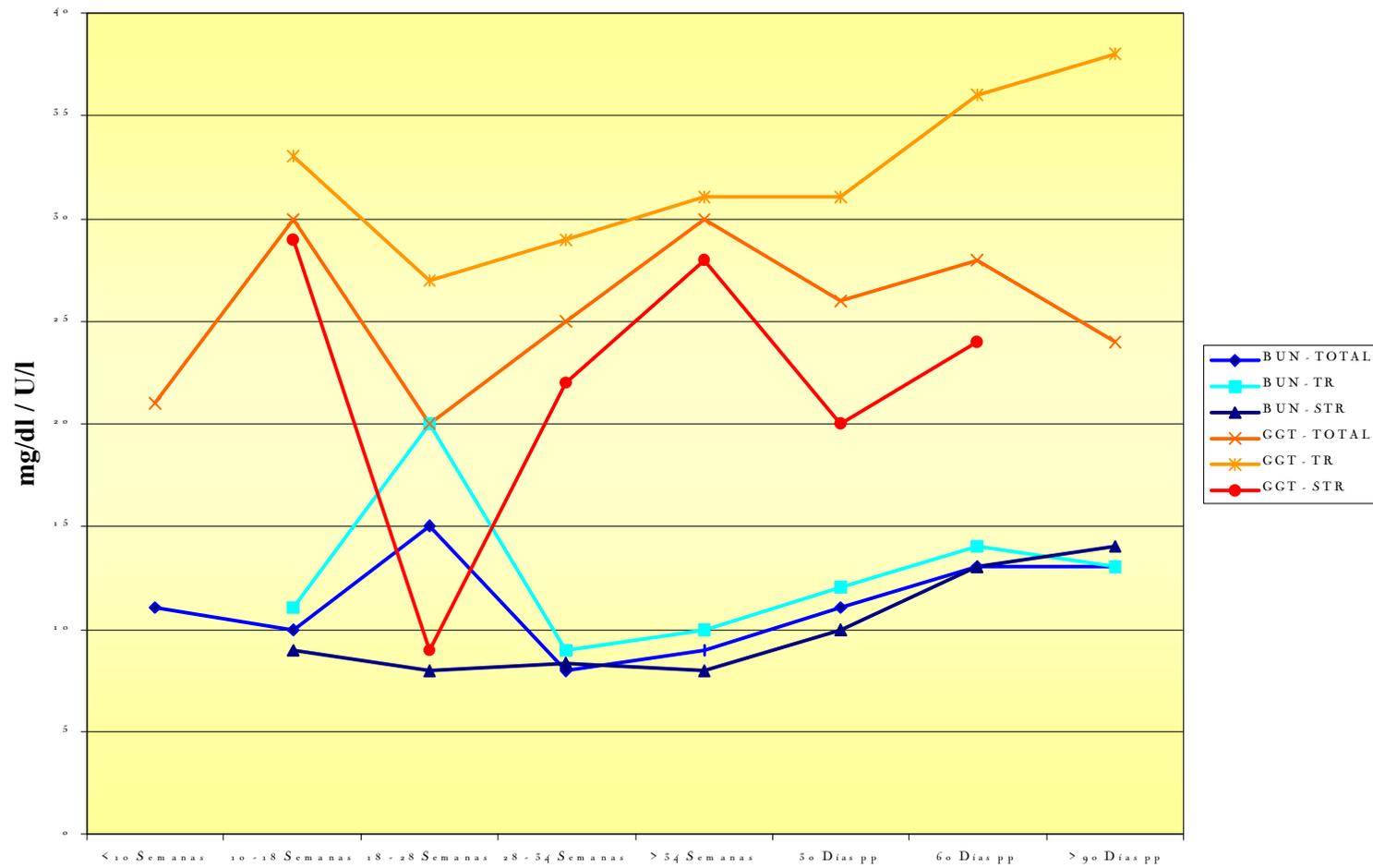
## GluB y GluPp



**Gráfico 8.-**Variabilidad de la Glucosa Basal (GluB: mg/dl) y Glucosa Postprandial (GluPp: mg/dl) - durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



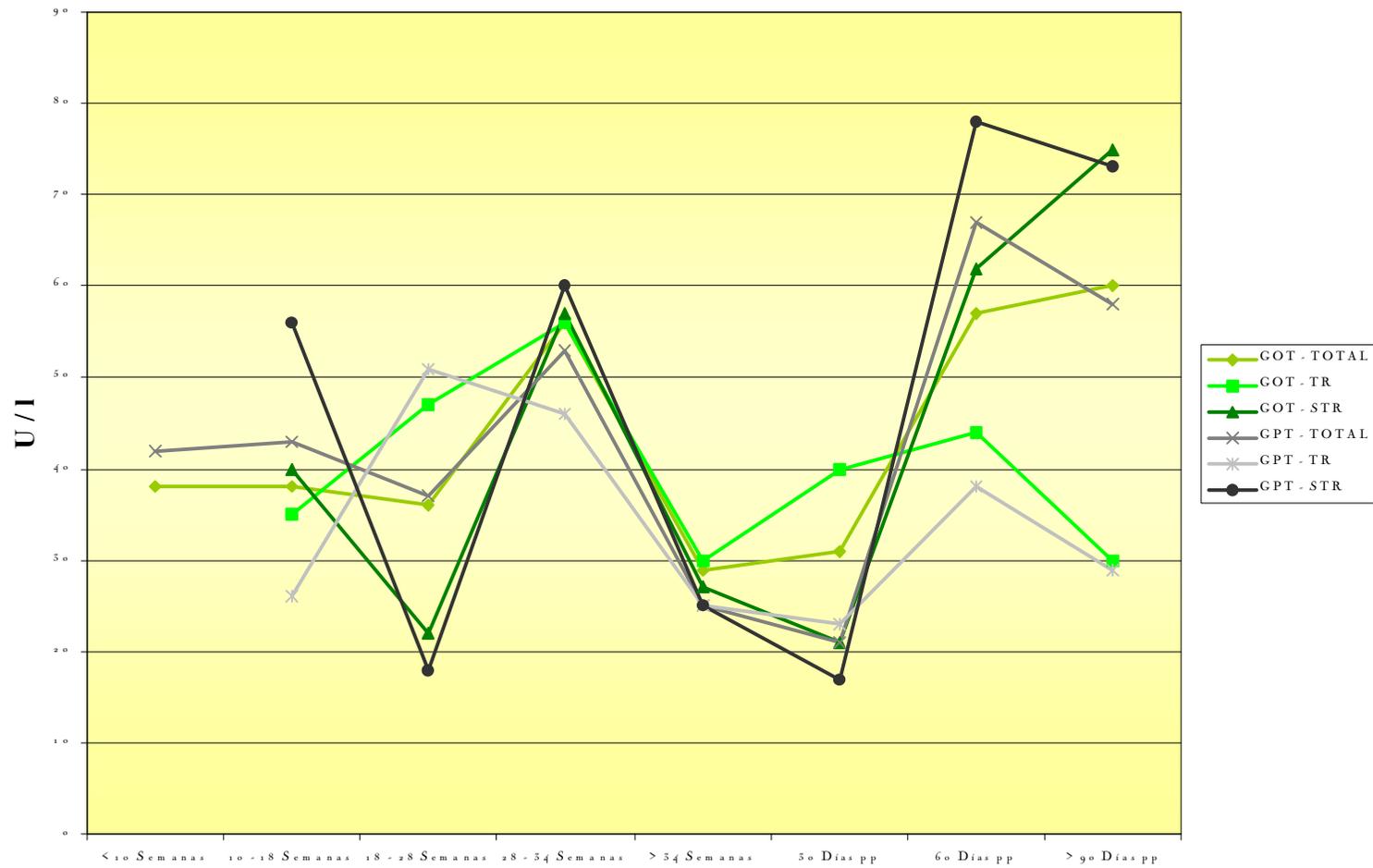
## BUN / GGT



**Gráfico 9.-**Comportamiento del Nitrógeno Ureico (BUN: mg/dl) y la Gamma-glutamiltanspeptidasa (GGT: U/l) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



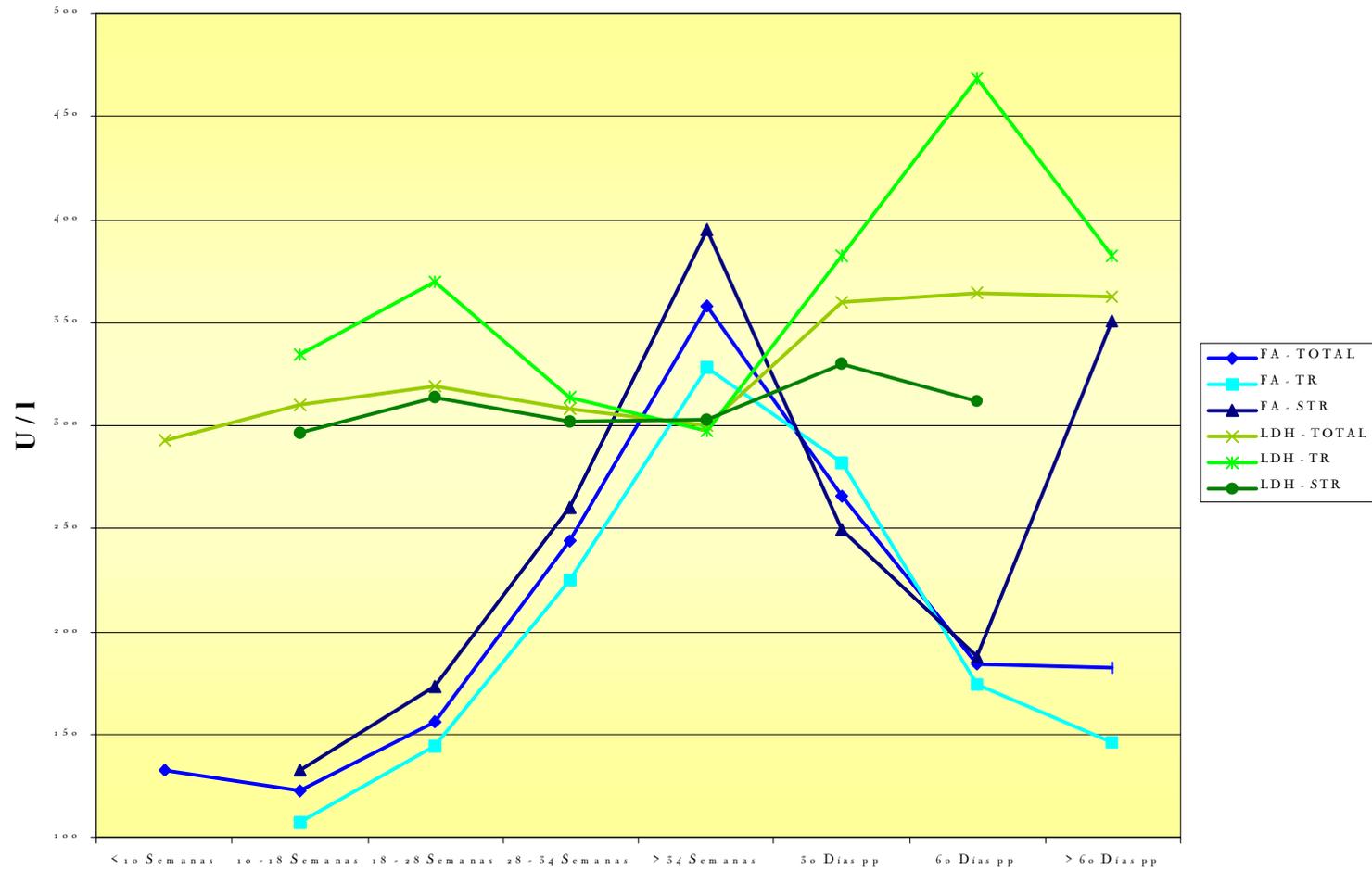
## GOT / GPT



**Gráfico 10.-**Variación del Glutámico-oxalacético-transaminasa (GOT:U/l) y la Glutámico-pirúvico-transaminasa (GPT:U/l) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



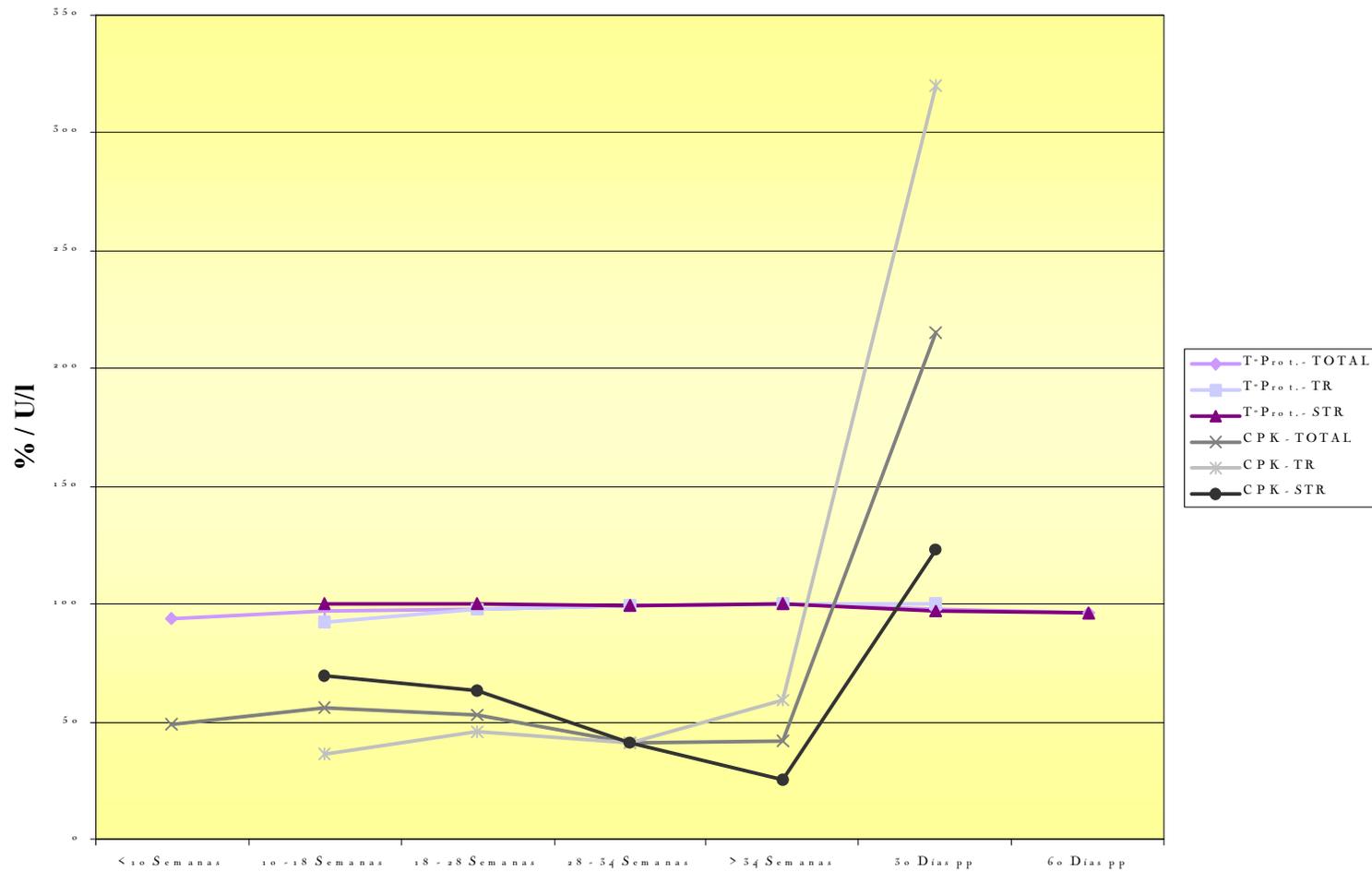
## FA y LDH



**Gráfico 11.-**Variación de la Fosfatasa alcalina (FA: U/l) y la Lactato deshidrogenasa (LDH: U/l) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



## T° Prot y CPK



**Gráfico 12.-**Variación del Tiempo de Protrombina (T°Prot: %) la Enzima creatín fosfoquinasa (CPK: U/I) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



	< 10 Sem n: 15	10-18 Semanas n: 26			18-28 Semanas n: 22			28-34 Semanas n: 24			>34 Semanas n: 20		
	Total	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>Proteínas totales (g/dl)</b>	7.2	7.02	7.2	6.9	6.82	6.73	6.95	6.91	6.88	6.94	6.65	6.5	6.84
<b>Rango</b>	6.3-8.47	6.1-7.7	6.9-7.5	6.1-7.7	5.9-7.2	5.9-7.2	6.8-7.2	5.2-8	6.2-8	5.2-7.7	5.8-7.7	5.8-7.5	6-7.7
<b>Desviación estándar</b>	0.59	0.51	0.26	0.62	0.37	0.44	0.19	0.76	0.71	0.84	0.58	0.55	0.62
<b>Albúmina (g/dl)</b>	4.4	4.23	4.53	4.03	3.67	3.64	3.73	3.7	3.77	3.65	3.5	3.63	3.29
<b>Rango</b>	4.1-4.9	3.17-5	3.9-4.9	3.17-5	3-4.2	3-4.2	3.5-3.92	3-4.2	3.3-4.2	3-4.1	3.1-4.1	3.2-4.1	3.1-3.6
<b>Desviación estándar</b>	0.32	0.62	0.43	0.67	0.38	0.48	0.18	0.36	0.34	0.40	0.34	0.34	0.34
<b>Fracción Alfa1 (g/dl)</b>	0.2	0.2	0.17	0.21	0.23	0.23	0.24	0.27	0.27	0.27	0.31	0.25	0.38
<b>Rango</b>	0.1-0.32	0.1-0.3	0.12-0.2	0.1-0.3	0.17-0.4	0.2-0.25	0.17-0.4	0.16-0.4	0.2-0.3	0.16-0.4	0.2-0.5	0.2-0.3	0.3-0.5
<b>Desviación estándar</b>	0.07	0.66	0.05	0.07	0.06	0.02	0.1	0.07	0.06	0.07	0.09	0.05	0.08
<b>Fracción Alfa 2 (g/dl)</b>	0.65	0.63	0.65	0.62	0.67	0.64	0.72	0.67	0.67	0.67	0.76	0.75	0.77
<b>Rango</b>	0.4-0.85	0.4-0.8	0.5-0.82	0.4-0.7	0.5-0.8	0.5-0.8	0.65-0.79	0.5-0.9	0.5-0.9	0.5-0.8	0.6-0.9	0.6-0.8	0.6-0.9
<b>Desviación estándar</b>	0.13	0.13	0.16	0.13	0.1	0.12	0.07	0.13	0.16	0.11	0.13	0.14	0.14
<b>Fracción Beta (g/dl)</b>	0.6	0.56	0.57	0.55	0.77	0.78	0.75	0.71	0.74	0.7	0.76	0.81	0.71
<b>Rango</b>	0.37-1.3	0.4-0.7	0.46-0.75	0.4-0.7	0.63-0.9	0.66-0.9	0.63-0.9	0.46-1.2	0.5-1.2	0.46-0.9	0.6-0.9	0.7-0.9	0.6-0.8
<b>Desviación estándar</b>	0.27	0.13	0.16	0.13	0.11	0.11	0.13	0.21	0.29	0.17	0.12	0.11	0.12
<b>Fracción Gamma (g/dl)</b>	1.53	1.55	1.39	1.64	1.45	1.34	1.6	1.75	1.62	1.84	1.75	1.75	1.76
<b>Rango</b>	0.99-2.1	1-2.57	1.2-1.5	1-2.57	1.02-1.96	1.02-1.6	1.24-1.96	0.75-2.5	1-2.5	0.75-2.5	1.1-2.3	1.1-2.3	1.4-2.2
<b>Desviación estándar</b>	0.37	0.5	0.16	0.61	0.27	0.21	0.3	0.58	0.57	0.62	0.51	0.81	0.43

**Tabla 40.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S) de los parámetros del proteinograma, a lo largo de la gestación para la toda la muestra (Total), como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto). Sem: semanas.

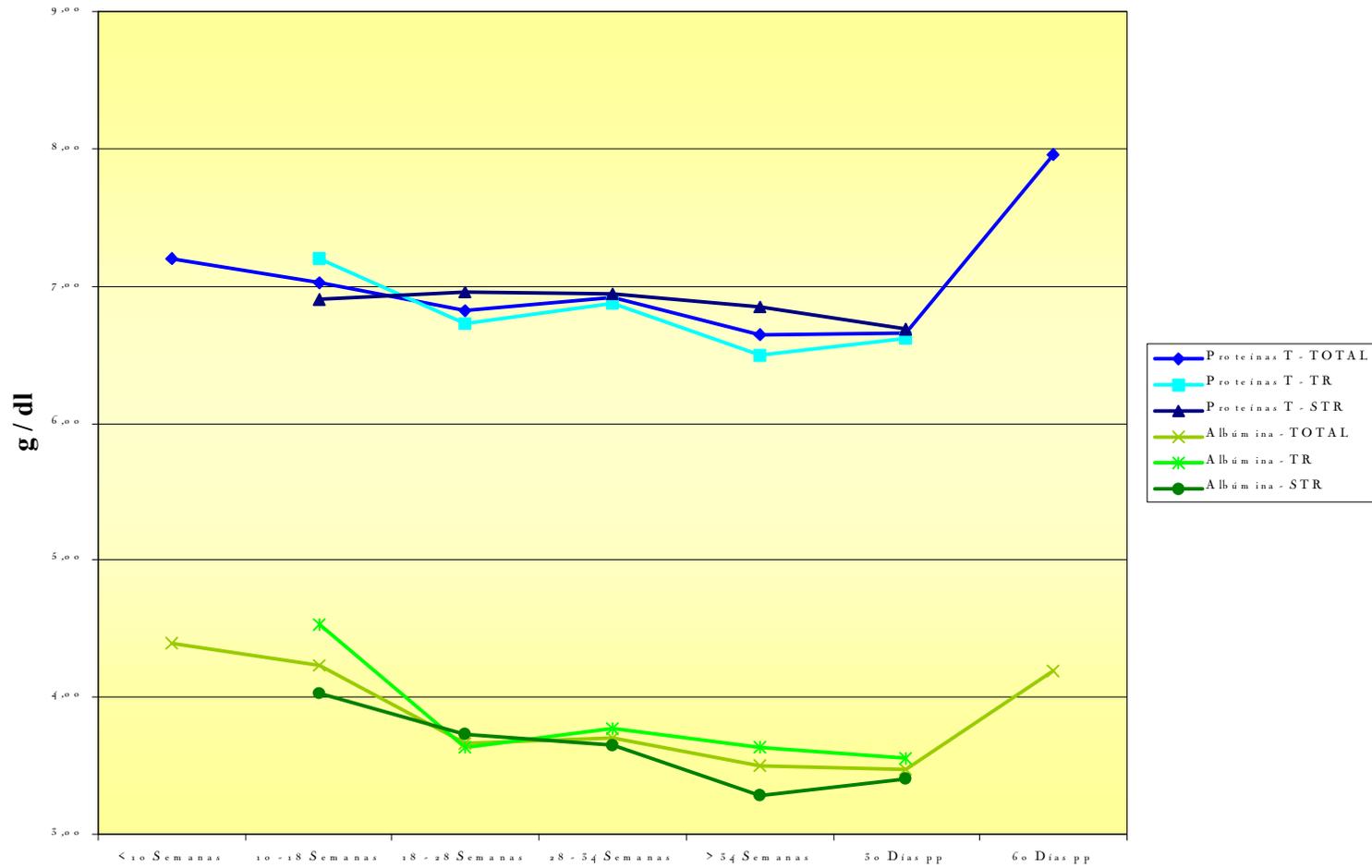


	<b>Puerperio inmediato</b> <b>n:22</b>			<b>Puerperio Tardío</b> <b>n:6</b>
	<b>Total</b>	<b>Con Tto</b>	<b>Sin Tto</b>	<b>Total</b>
<b>Proteínas totales (g/dl)</b>	6.66	6.61	6.69	7.96
<b>Rango</b>	5.3-8	5.3-7.5	5.8-8	6.8-9.4
<b>Desviación estándar</b>	0.69	0.87	0.58	0.96
<b>Albúmina (g/dl)</b>	3.47	3.56	3.41	4.19
<b>Rango</b>	2.66-4.9	2.9-4.6	2.66-4.9	3.65-4.6
<b>Desviación estándar</b>	0.56	0.58	0.56	0.42
<b>Fracción Alfa 1 (g/dl)</b>	0.28	0.25	0.3	0.11
<b>Rango</b>	0.2-0.44	0.2-0.32	0.21-0.44	0.1-0.12
<b>Desviación estándar</b>	0.07	0.05	0.07	0.01
<b>Fracción Alfa 2 (g/dl)</b>	0.75	0.72	0.76	0.5
<b>Rango</b>	0.43-1.01	0.43-1.01	0.56-0.92	0.61-0.39
<b>Desviación estándar</b>	0.15	0.19	0.13	0.16
<b>Fracción Beta (g/dl)</b>	0.74	0.86	0.67	0.61
<b>Rango</b>	0.4-2.1	0.4-2.1	0.5-1.03	0.56-0.66
<b>Desviación estándar</b>	0.40	0.62	0.19	0.07
<b>Fracción Gamma (g/dl)</b>	1.50	1.44	1.54	2.83
<b>Rango</b>	0.9-2.3	0.9-2.1	1.2-2.3	2.08-3.57
<b>Desviación estándar</b>	0.39	0.48	0.35	1.05

**Tabla 41.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S) del proteinograma estudiados en el postparto en el grupo global (Total) como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto).



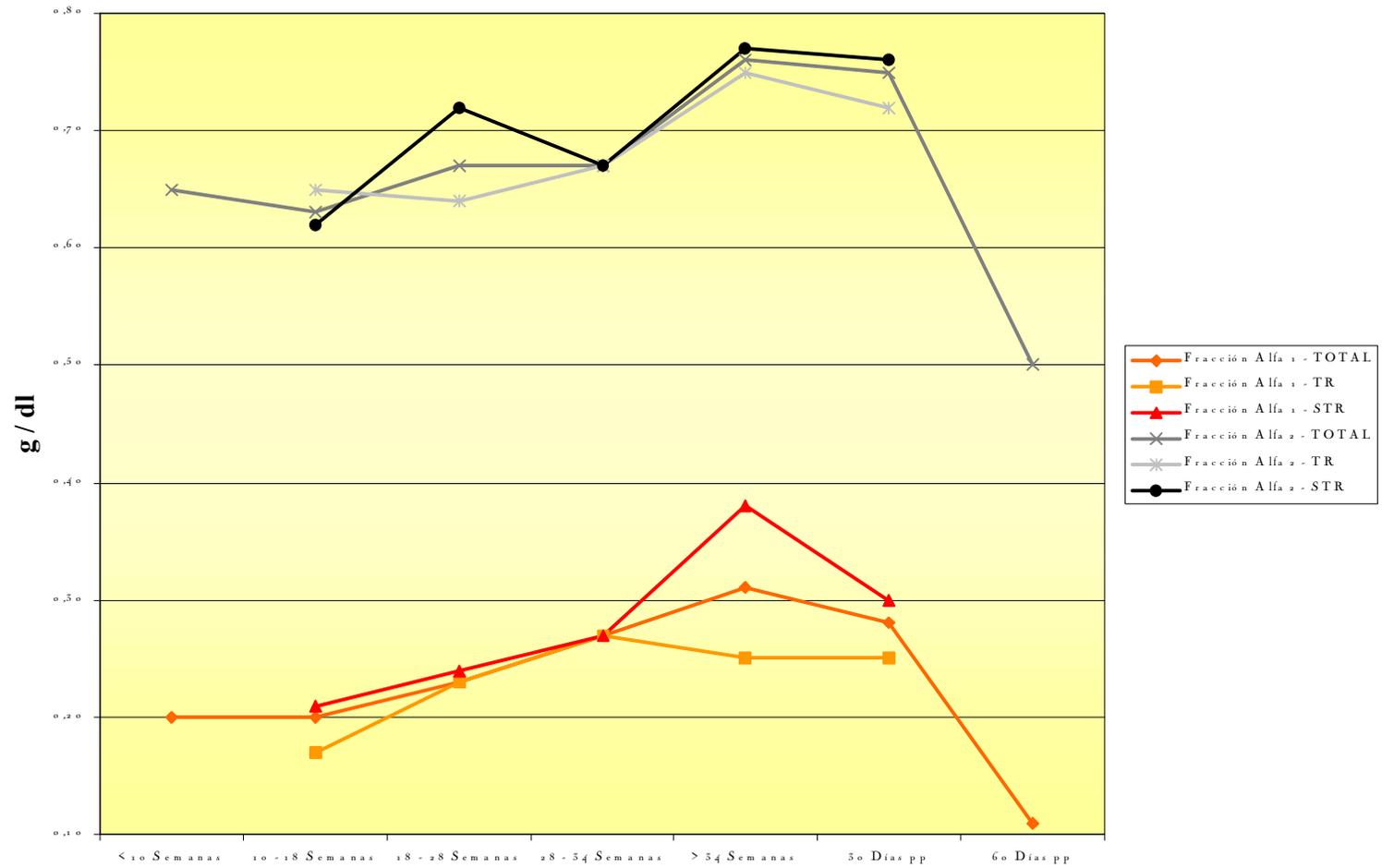
### Proteínas T / Albúmina



**Gráfico 13.-**Variabilidad de las Proteínas Totales (Proteínas T: g/dl) y, en particular, de la Albúmina (g/dl) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



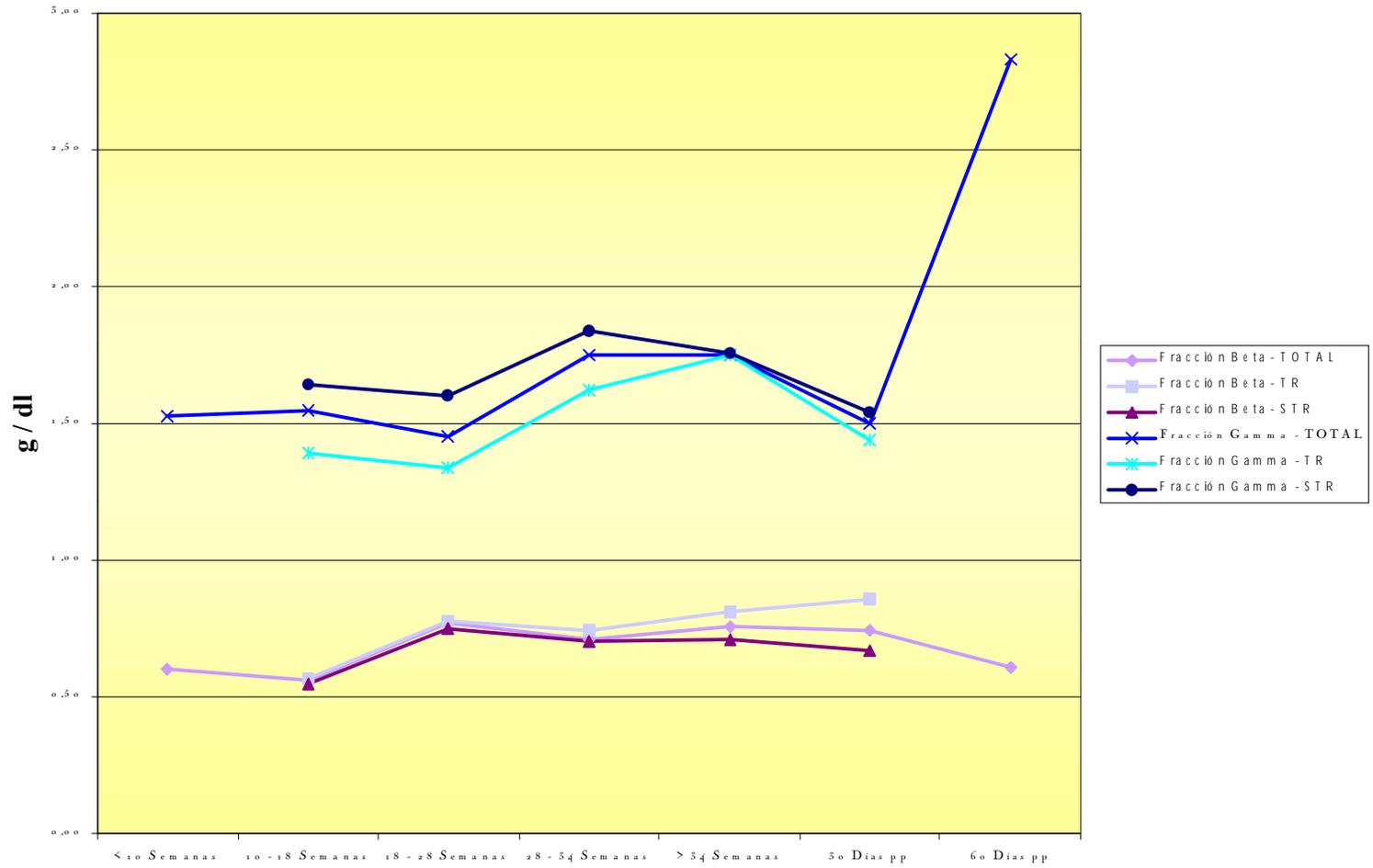
### Fracción Alfa 1 / Fracción Alfa 2



**Gráfico 14.**-Variabilidad de las Fracciones Alfa 1 y Alfa 2 (g/dl) de las Proteínas Totales durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



### Fracción Beta / Fracción Gamma



**Gráfico 15.-** Variabilidad de las Fracciones Beta y Gamma (g/dl) de las Proteínas Totales durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



	<10 Sem n: 15	10-18 Semanas n: 26			18-28 Semanas n: 22			28-34 Semanas n: 24			>34 Semanas n: 20		
	Total	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>IgA (mg/dl)</b>	225.58	169.40	186.20	152.60	147.40	157	141	185.17	194.33	176	211	158.83	273.6
<b>Rango</b>	46-482	82-387	82-387	138-181	136-178	136-178	137-145	65-476	64-475	138-228	69-489	69-389	138-489
<b>Desviación estándar</b>	132.62	86.72	126.24	16.74	17.47	29.70	4.00	113.30	162.81	39.15	136.91	121.38	139.52
<b>IgG (mg/dl)</b>	1381.83	1475.50	1194.40	1756.6	1473.40	1191	1661.67	1531.25	1227.83	1834.67	1507.55	1191.33	1887
<b>Rango</b>	767-2743	823-2380	823-1636	1284-2380	1099-2501	1188-1194	1099-2501	721-2344	792-1600	721-2344	676-2430	676-2272	1214-2430
<b>Desviación estándar</b>	451.01	497.72	304.87	516.61	538.84	4.24	740.82	579.80	334.34	637.84	652.17	603	528.07
<b>IgM (mg/dl)</b>	136.92	130.60	119.40	141.80	217.20	128.50	276.33	177.33	152.67	202	167.18	133.17	208
<b>Rango</b>	54-222	39-199	39-199	103-185	85-502	85-172	114-502	58-322	58-224	81-322	42-312	42-218	139-312
<b>Desviación estándar</b>	47.23	53.73	72.58	30.26	166.81	61.52	201.6	84.22	61.82	101.6	76.58	72.07	65.96
<b>IgE (mg/dl)</b>	46.82	9.33	5.80	16.40	42.13	42.30	26.50	40.55	51.03	9.10	61.67	61.67	
<b>Rango</b>	2.2-129	4.6-27.1	4.6-7	5.7-27.1	2-7304	2-73.4	2-51	2.4-92	5.8-92	2.4-15.8	6-108	6-108	
<b>Desviación estándar</b>	50.87	8.74	0.98	15.13	36.52	35.62	34.65	39.36	40.29	9.48	51.64	51.64	
<b>β-2 microglb (mg/l)</b>	1.35	1.69	1.40	1.98	1.48	1.27	1.63	1.98	2.01	1.95	1.93	1.59	2.14
<b>Rango</b>	0.67-2.02	1.06-2.80	1.06-1.64	1.60-2.80	1.07-1.90	1.07-1.63	1.08-1.90	0.50-3.30	1.10-3.30	0.5-2.82	1.19-2.50	1.19-2.31	1.80-2.50
<b>Desviación estándar</b>	0.41	0.52	0.28	0.56	0.38	0.31	0.39	0.78	0.85	0.77	0.51	0.63	0.35
<b>Antígeno p24 (pg/ml)</b>	11.53	27.42	24.53		12.67	19		11.90	11.90		27.16	29.27	
<b>Rango</b>	0-24.3	0-70	0-70		0-19	17-19		0.5-23.3	0.5-23.3		0-49.8	0-49.8	
<b>Desviación estándar</b>	11.51	27.72	31.13		10.97	1.53		16.12	16.12		25.20	26.02	
<b>CD4 (células/μl)</b>	480.83	501	393.83	629.60	615.67	462	769.33	717.38	514.14	954.5	654.44	558.75	731
<b>Rango</b>	275-1002	194-805	197-774	425-805	307-987	307-571	367-987	312-1699	312-770	322-1699	294-1584	294-778	322-1584
<b>Desviación estándar</b>	205.81	217.58	208.09	162.25	290.88	137.88	348.82	461.74	141.82	601.89	419.96	244.54	539.82
<b>CD8 (células/μl)</b>	656	550.27	421.83	704.4	446.33	357.67	535	774.62	587.86	992.5	802.11	734.75	856
<b>Rango</b>	275-1180	277-939	277-666	579-939	341-709	341-366	400-709	335-2190	335-804	409-2190	303-1487	303-1413	409-1487
<b>Desviación estándar</b>	299.79	197.89	136.94	141.48	139.72	14.43	158.15	469.35	153.07	628.31	312.85	476.24	419.27

**Tabla 42.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S.) de los marcadores de progresión a lo largo de la gestación para toda la muestra (Total), como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto). Sem: semanas; microglb: microglobulina.

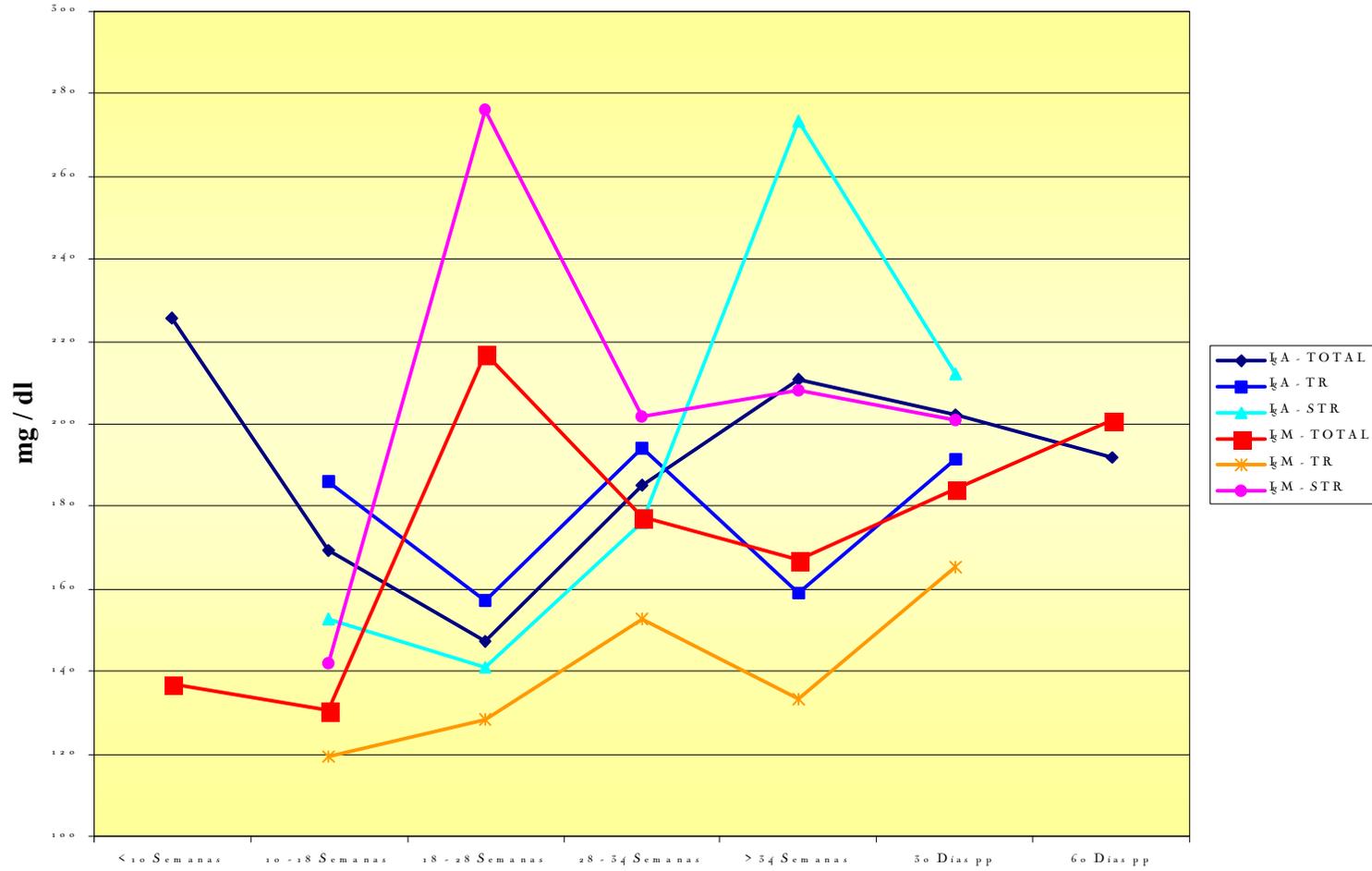


	Puerperio inmediato N: 20			Puerperio Tardío n: 8		
	Total	Con Tto	Sin Tto	Total	Con Tto	Sin Tto
<b>IgA (mg/dl)</b>	202.29	191.38	212	192		
<b>Rango</b>	78-416	78-416	136-383	189-195		
<b>Desviación estándar</b>	106.29	131.15	85.54	4.24		
<b>IgG (mg/dl)</b>	1372.59		1497.89	2575		
<b>Rango</b>	717-2621		857-2621	1858-3292		
<b>Desviación estándar</b>	480		541.11	1013.99		
<b>IgM (mg/dl)</b>	184.06	165.13	200.89	201		
<b>Rango</b>	53-44.5	53-229	98-445	167-235		
<b>Desviación estándar</b>	86.98	53.92	109.14	48.08		
<b>IgE (mg/dl)</b>	104.24	67.14	150.63			
<b>Rango</b>	5.8-422	5.8-116.3	17.2-422			
<b>Desviación estándar</b>	127.04	56.01	183			
<b>β-2 microglobulina (mg/l)</b>	2.22	2.16	2.26			
<b>Rango</b>	1.71-2.80	1.71-2.76	1.74-2.80			
<b>Desviación estándar</b>	0.47	0.44	0.53			
<b>Antígeno p24 (pg/ml)</b>	9.74	16.23				
<b>Rango</b>	0-36.5	0-36.5				
<b>Desviación estándar</b>	15.86	18.58				
<b>CD4 (células/μl)</b>	949.07	751.11	1305.4	533.17		
<b>Rango</b>	292-2343	292-2307	620-2343	305-791		
<b>Desviación estándar</b>	686.52	632.20	696.78	178.84		
<b>CD8 (células/μl)</b>	654.93	524.22	890.20	838.83		
<b>Rango</b>	282-1487	282-929	541-1487	391-2081		
<b>Desviación estándar</b>	312.85	188.36	373.51	631.25		

**Tabla 43.-** Valores de la media, rango y desviación estándar (D.S) de los marcadores de progresión estudiados en el postparto para toda la muestra (Total), como de forma diferenciada el grupo que recibe terapia antirretroviral (Con Tto) del que no (Sin Tto).



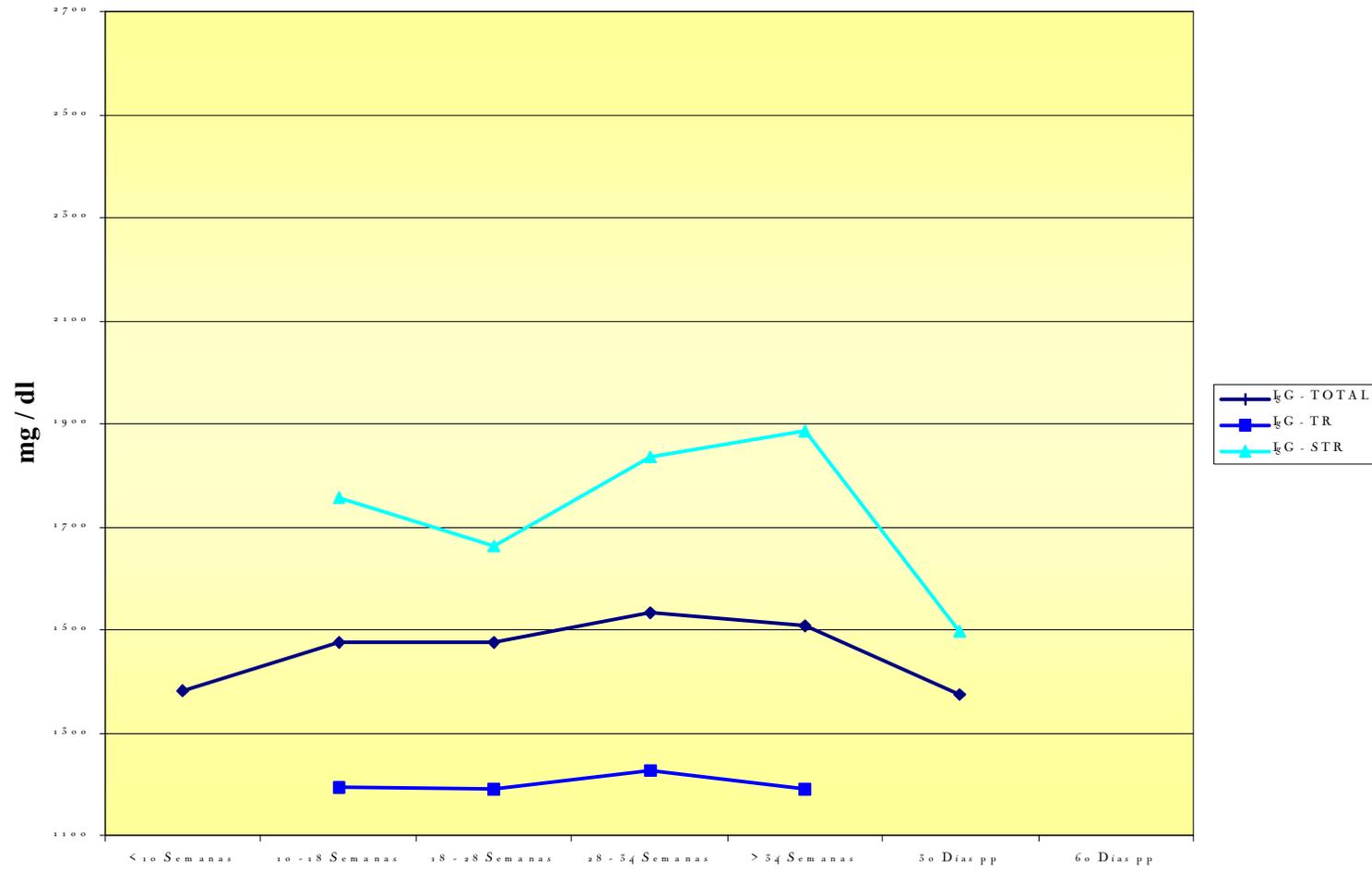
## IgA / IgM



**Gráfico 16.-**Variación de la Inmunoglobulina A (IgA: mg/dl) y la Inmunoglobulina M (IgM: mg/dl) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



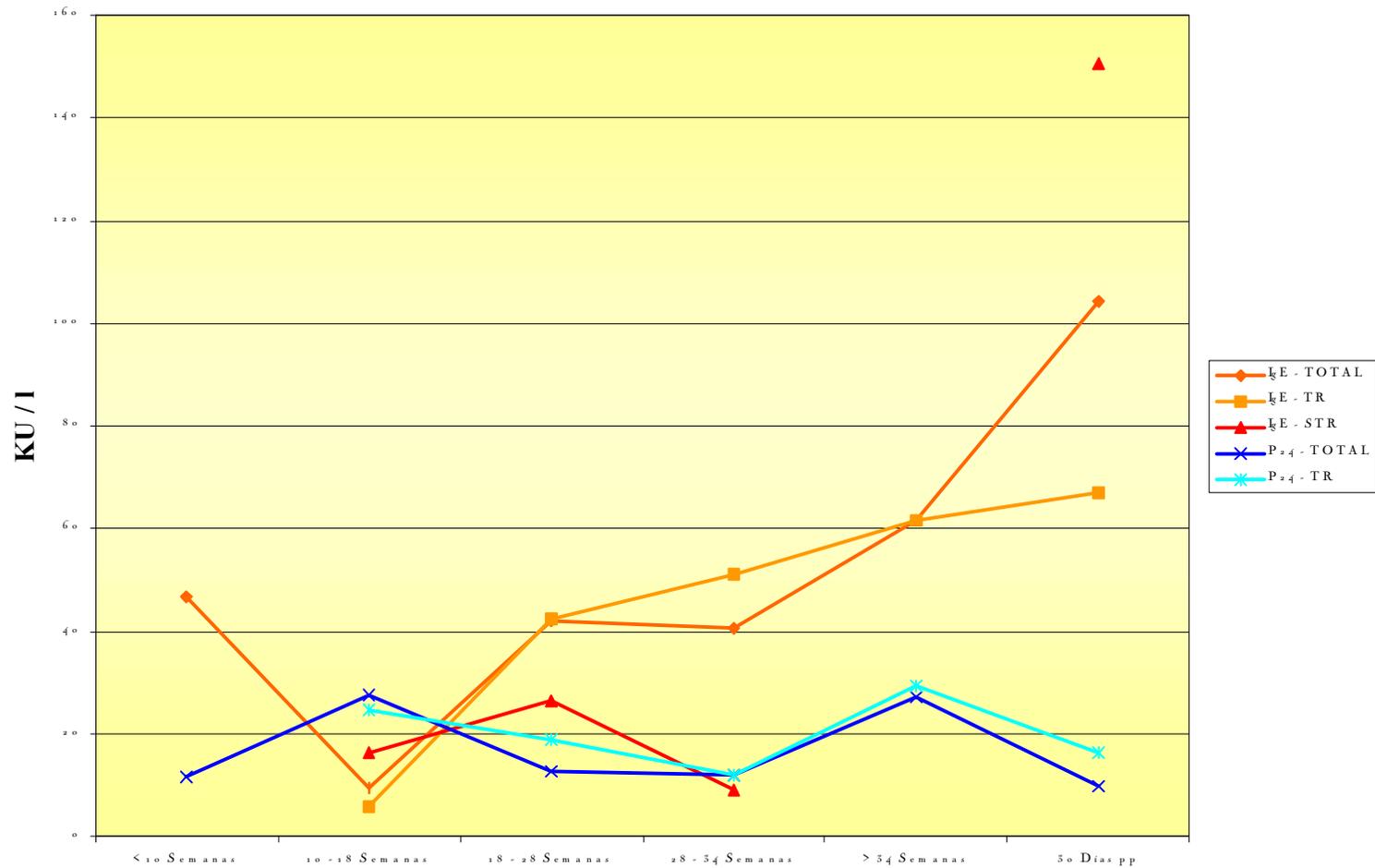
## IgG



**Gráfico 17.-**Variación de la Inmunoglobulina G (IgG: mg/dl) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



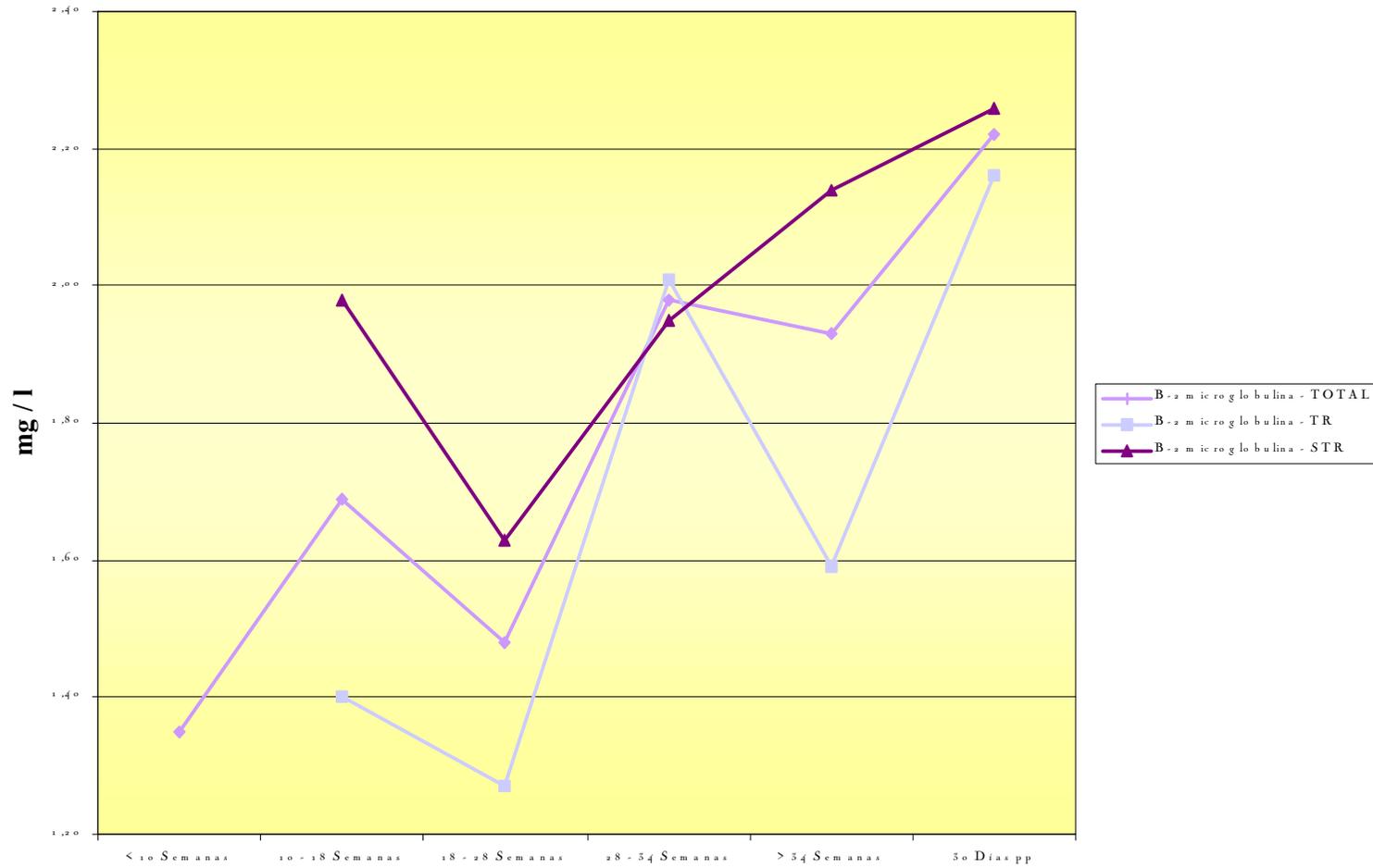
## IgE / P24



**Gráfico 18.**-Variación de la Inmunoglobulina E (IgE: KU/l) y del antígeno P24 durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



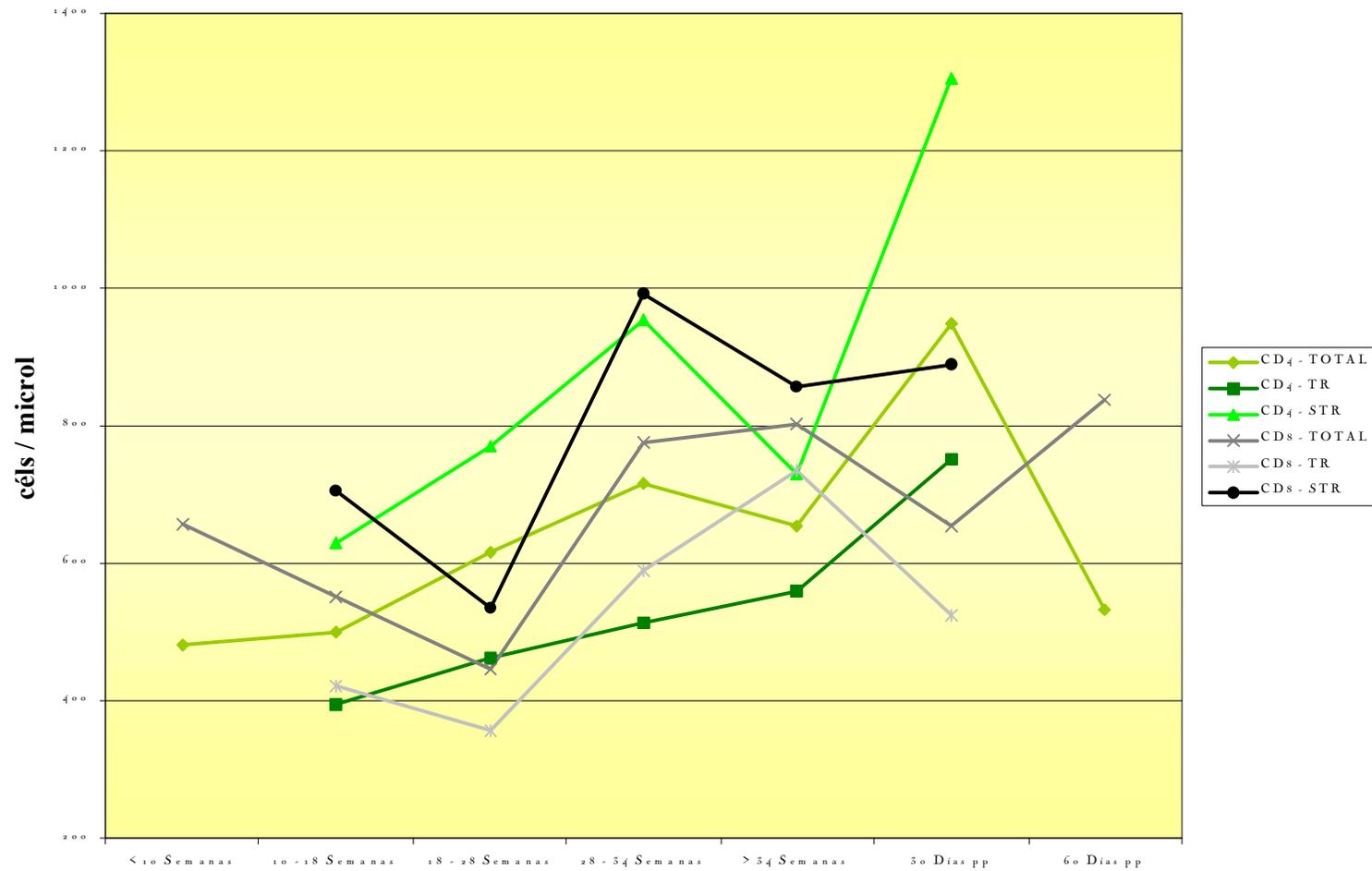
## Beta-2 microglobulina



**Gráfico 19.**-Variación de la Beta-2 microglobulina (mg/l) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



## CD4 / CD8



**Gráfico 20.-**Variación de los linfocitos CD4 y CD8 (células/microlitro) durante la gestación y el postparto (pp). Grupo total (TOTAL) y gestantes con (TR) y sin terapia antirretroviral (STR).



**Resultados**

	<b>I Trimestre</b>	<b>II Trimestre</b>	<b>III Trimestre</b>	<b>Postparto</b>
<b>Hemoglobina (mg/dl)</b>				
<b>Media</b>	11.71	11.09	11.14	10.67
<b>Rango</b>	9.7-14.5	8.7-13.2	9-12.6	7.9-13.2
<b>Hematocrito (%)</b>				
<b>Media</b>	34.27	31.79	32.66	31.64
<b>Rango</b>	28.3-43.8	24.8-36.7	26.7-36.5	23-39.9
<b>CD4 (células/<math>\mu</math>l)</b>				
<b>Media</b>	417.45	522.64	601.73	526.36
<b>Rango</b>	194-777	312-987	294-947	292-824
<b>CD8 (células/<math>\mu</math>l)</b>				
<b>Media</b>	471	547.09	691.64	531.27
<b>Rango</b>	275-726	319-804	303-1413	282-929
<b>IgA (mg/dl)</b>				
<b>Media</b>	202.27	156.64	186.73	169.36
<b>Rango</b>	82-482	65-387	69-466	78-416
<b>IgG (mg/dl)</b>				
<b>Media</b>	1447.73	1506.82	1397.18	1368
<b>Rango</b>	1014-2380	792-2501	676-2430	717-2621
<b>IgM (mg/dl)</b>				
<b>Media</b>	140.64	154.73	144.18	154.18
<b>Rango</b>	54-199	39-240	42-227	53-216
<b><math>\beta</math>-2 microglobulina (g/l)</b>				
<b>Media</b>	1.54	1.53	1.74	
<b>Rango</b>	0.94-2.80	1.06-2.2	1.1-2.5	
<b>Proteínas Totales (g/dl)</b>				
<b>Media</b>	7.23	6.97	6.72	6.48
<b>Rango</b>	6.3-7.7	5.89-8	6.2-7.5	5.3-7.5
<b>Albumina (g/dl)</b>				
<b>Media</b>	4.35	3.72	3.65	3.41
<b>Rango</b>	3.5-4.9	3-4.2	3.2-4.1	2.66-3.99
<b>Globulinas (g/dl)</b>				
<b>Media</b>	2.88	3.25	3.07	3.07
<b>Rango</b>	2.1-3.8	2.79-3.9	2.2-3.8	2.23-4.2
<b>Cociente Alb/Glb</b>				
<b>Media</b>	1.55	1.16	1.22	1.15
<b>Rango</b>	1.03-2.04	0.77-1.4	0.84-1.86	0.69-1.5
<b>Gammaglobulina (g/dl)</b>				
<b>Media</b>	1788	1842.6	1770.4	1723.1
<b>Rango</b>	1178-2668	921-2853	827-2785	8600-3044
<b>LDH (U/l)</b>				
<b>Media</b>	335.42	334.5	331.25	409.08
<b>Rango</b>	276-438	249-465	250-445	301-538
<b>CPK (U/l)</b>				
<b>Media</b>	55.42	50.92	55.08	239.17
<b>Rango</b>	18-120	16-125	7-135	16-684

**Tabla 44.-** Valores de la media y rango en cada uno de los trimestres y postparto, de los parámetros del hemograma y bioquímica entre aquellas pacientes que cumplieron todas las determinaciones.

## Resultados

	I vs II	I vs III	I vs PP	II vs III	II vs PP	III vs PP
<b>HCTO GL</b>	26	26	26	26	26	26
<b>t-Student</b>	1.66	1.13	1.60	-0.63	0.10	0.7
<b>p</b>	<b>0.1</b>	n.s	<b>0.1</b>	n.s	n.s	n.s
<b>HB GL</b>	26	26	26	26	26	26
<b>t-Student</b>	1.27	1.23	1.97	0.11	0.83	0.98
<b>p</b>	n.s	n.s	<b>0.05</b>	n.s	n.s	n.s
<b>CD4 GL</b>	20	20	20	20	20	20
<b>t-Student</b>	-1.41	-2.25	-1.52	-0.90	-0.05	0.88
<b>p</b>	<b>0.1</b>	<b>0.025</b>	<b>0.1</b>	n.s	n.s	n.s
<b>CD8 GL</b>	20	20	20	20	20	20
<b>t-Student</b>	-1.10	-2.32	-0.83	-1.44	0.20	1.55
<b>p</b>	n.s	<b>0.025</b>	n.s	<b>0.1</b>	n.s	<b>0.1</b>
<b>IgA GL</b>	20	20	20	20	20	20
<b>t-Student</b>	0.91	0.27	0.65	-0.65	-0.33	0.37
<b>p</b>	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
<b>IgG GL</b>	20	20	20	20	20	20
<b>t-Student</b>	-0.28	0.21	0.37	0.43	0.6	0.11
<b>p</b>	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
<b>IgM GL</b>	20	20	20	20	20	20
<b>t-Student</b>	-0.56	-0.15	-0.68	0.39	0.02	-0.44
<b>p</b>	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
<b>β-2 µgIb GL</b>	18	18		18		
<b>t-Student</b>	0.05	-0.81		-0.91		
<b>p</b>	n.s	n.s		n.s		
<b>ProteínaT GL</b>	22	22	22	22	22	22
<b>t-Student</b>	1.41	3.01	3.56	1.31	2.15	1.11
<b>p</b>	<b>0.1</b>	<b>0.005</b>	<b>0.005</b>	n.s	<b>0.025</b>	n.s
<b>Albumina GL</b>	22	22	22	22	22	22
<b>t-Student</b>	3.72	4.75	6.03	0.48	2.02	1.86
<b>p</b>	<b>0.005</b>	<b>0.005</b>	<b>0.005</b>	n.s	<b>0.05</b>	<b>0.05</b>
<b>Globulinas GL</b>	22	22	22	22	22	22
<b>t-Student</b>	-2.08	-0.99	-0.89	0.97	0.86	0
<b>p</b>	<b>0.025</b>	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
<b>GGIb GL</b>	18	18	18	18	18	18
<b>t-Student</b>	-0.22	0.06	0.22	0.24	0.41	0.15
<b>p</b>	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
<b>Alb/gIb GL</b>	22	22	22	22	22	22
<b>t-Student</b>	3.5	2.68	3.35	-0.62	0.11	0.66
<b>p</b>	<b>0.005</b>	<b>0.01</b>	<b>0.005</b>	n.s	n.s	n.s
<b>LDH GL</b>	22	22	22	22	22	22
<b>t-Student</b>	0.04	0.17	-2.33	0.14	-2.37	-2.56
<b>p</b>	n.s	n.s	<b>0.025</b>	n.s	<b>0.025</b>	<b>0.01</b>
<b>CPK GL</b>	22	22	22	22	22	22
<b>t-Student</b>	0.37	0.02	-3.15	-0.28	-3.22	-3.12
<b>p</b>	n.s	n.s	<b>0.005</b>	n.s	<b>0.005</b>	<b>0.005</b>

**Tabla 45.-** Aplicación de la t de Student (t-Student), Grados de libertad (G.L.) y significancia estadística (p) entre los diferentes períodos gestacionales y postparto. β-2µgIb: β-2 microglobulina; GGIb: gammaglobulina; ProteínaT: proteínas totales.

## II.-RESULTADOS CLINICOS

### IIA.- CURSO DE LA GESTACIÓN

En la tabla 46 se recoge el resultado obtenido tras el cultivo de la muestra cervical y vaginal obtenida en la primera visita.

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Cándida Albicans	18	42.8
Ureaplasma Urealyticum	11	26.2
Micoplasma Hominis	9	21.4
Trichomona Vaginalis	8	19
Chlamydia Trachomatis	4	9.5
Cándida Glabrata	3	7.1
Gardnerella Vaginalis	2	4.8
Streptococo Agalactiae	1	2.4
Neisseria Gonorreae	-	-

**Tabla 46.-**Distribución de frecuencia de cada uno de los microorganismos encontrados.

En el 57.14% de las gestantes el embarazo transcurrió sin que se apreciase patología asociada. Requirieron ingreso a lo largo de la gestación un total de 7 pacientes (25%) por: amenaza de parto pretérmino, pielonefritis, cólico nefrítico, infección bronquial y reactivación de hepatopatía crónica. Otro tipo de complicaciones que surgieron, pero que no requirieron hospitalización, y que recibieron tratamiento adecuado de forma ambulatoria fueron: anemia moderada-grave, condilomatosis perineal, displasia cervical moderada y plaquetopenia. En la tabla 47 se aprecia la incidencia de patología descrita.

<b>PATOLOGIA DURANTE LA GESTACIÓN</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b>Pacientes con patología que requirió ingreso</b>	<b>7</b>	<b>25</b>
Amenaza de parto pretérmino	3	-
Pielonefritis	2	-
Cólico nefrítico	1	-
Infección bronquial	1	-
Reactivación hepatopatía crónica	1	-
Gastroenteritis	1	-
<b>Pacientes con patología de control ambulatorio</b>	<b>5</b>	<b>17.85</b>
Anemia moderada-grave	2	-
Condilomatosis perineal	2	-
Displasia cervical moderada	1	-
Plaquetopenia	1	-

**Tabla 47.-** Distribución de la patología desarrollada durante la gestación.

**IIB.- CONTROL DEL BIENESTAR FETAL**

En las gráficas 21, 22 y 23 se exponen las curvas de crecimiento fetal (diámetros cefálico y abdominal, y longitud femoral). Se diagnosticaron mediante ultrasonografía tres casos (10.71%) de retraso de crecimiento intrauterino (CIR) asimétrico o tipo II, eran fetos que se encontraban en percentiles de crecimiento de 15-25%.

En la tabla 48 se describen los pesos en el momento del parto, edad gestacional (EG), grado placentario ecográfico (G), si recibió terapia antirretroviral y antecedentes maternos relevantes de estos tres recién nacidos distróficos diagnosticados prenatalmente.

<b>EG</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Placenta</b>	<b>Terapia</b>	<b>Patología Materna</b>
36.2	2240 g	GII-III	Sí	Metadona
39.3	2430 g	GII-III	No	Antecedente de ADNP
39.2	2485 g	GIII	No	Plaquetopenia. Condilomatosis Antecedente de ADVP

**Tabla 48.** - Descripción de los aspectos más característicos de los recién nacidos distróficos. EG: Edad gestacional en el momento del parto. g: gramos. Terapia: antirretrovirales. ADNP: adictos a drogas vía no parenteral. ADVP: adictos a drogas vía parenteral.

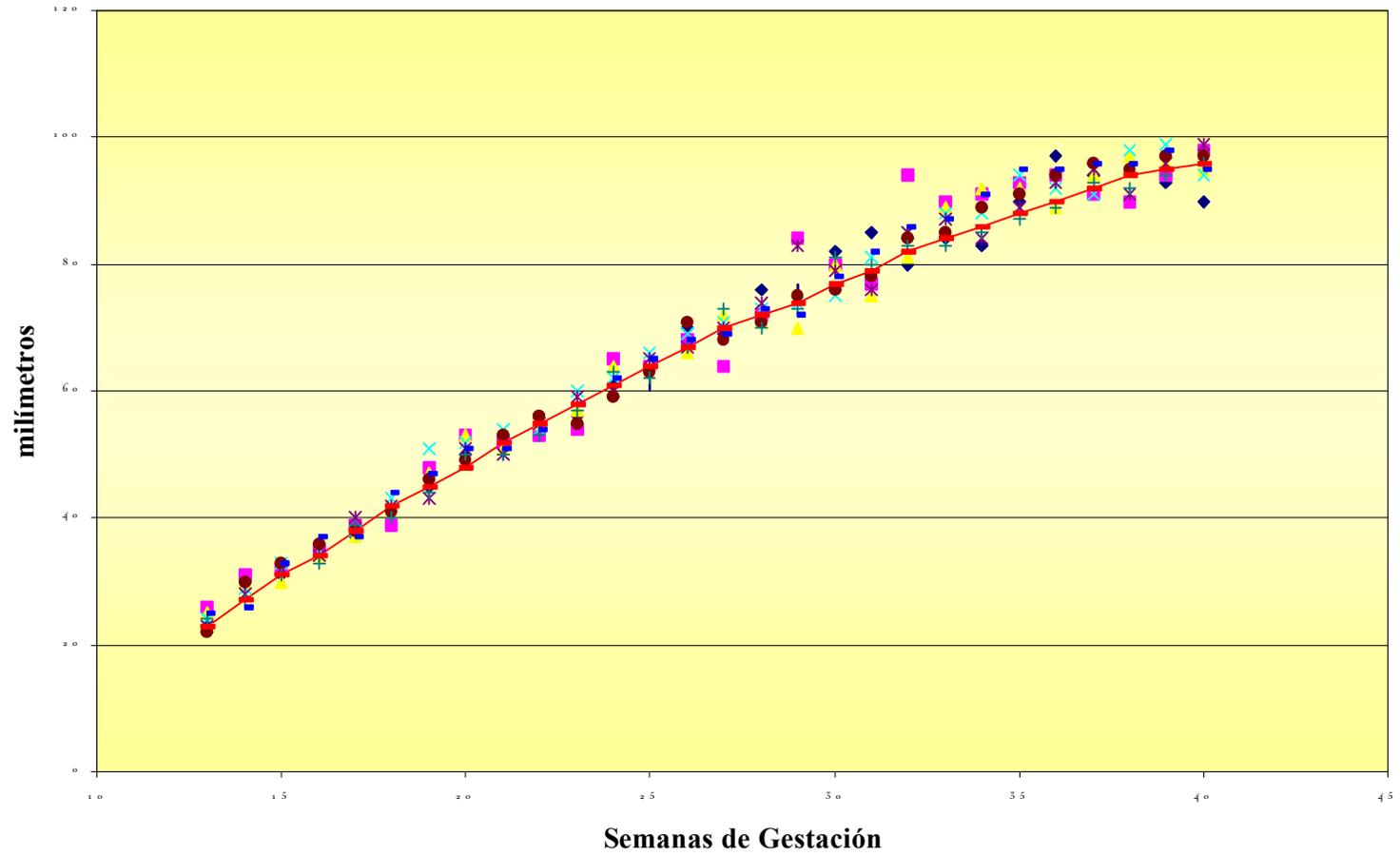
Se contempló también periódicamente la cantidad de líquido amniótico en cada control ecográfico. Fue detectado un caso de hidramnios moderado-severo (3.57%) que no requirió ingreso y que culminó en una cesárea electiva. El resto de las pacientes presentaron líquido amniótico normal a lo largo del embarazo.

En el estudio de la morfología de la imagen placentaria fue determinando el grado placentario en cada visita. Al término 9 gestantes presentaban una placenta GII; 4, una placenta GIII y las restantes, tenían placentas GII-III.

Todos los registros cardiotocográficos realizados desde la semana 34 fueron valorados como reactivos.

Igualmente, cada uno de los doppler de circulación fetal (umbilical, cerebral media y renal) prescritos entre las gestantes que superaron la semana 40 fueron considerados como fisiológicos.

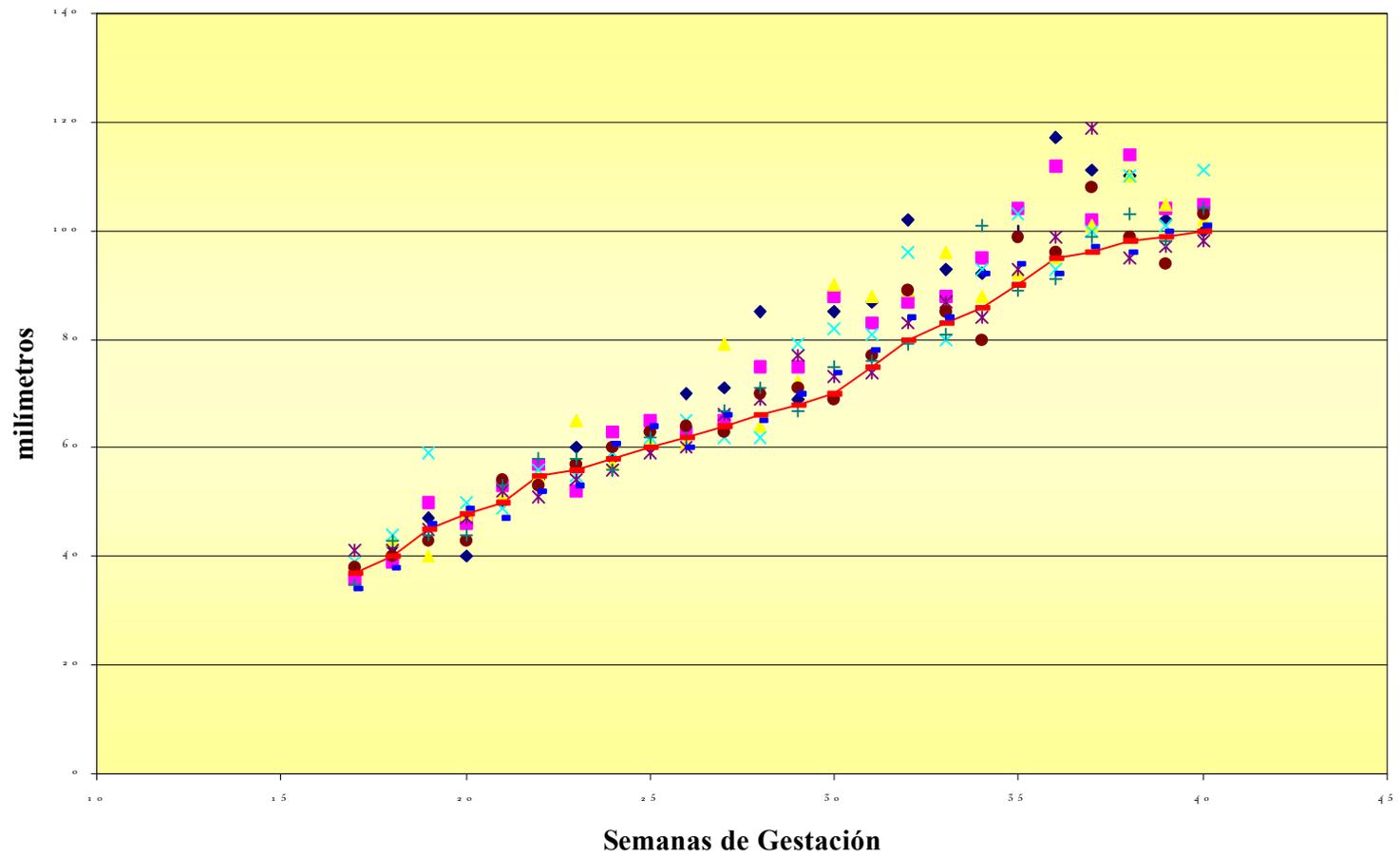
## DIÁMETRO BIPARIETAL



**Gráfico 21.**-Evolución de la biometría biparietal fetal durante la gestación (se ha reflejado con línea roja el percentil 50).



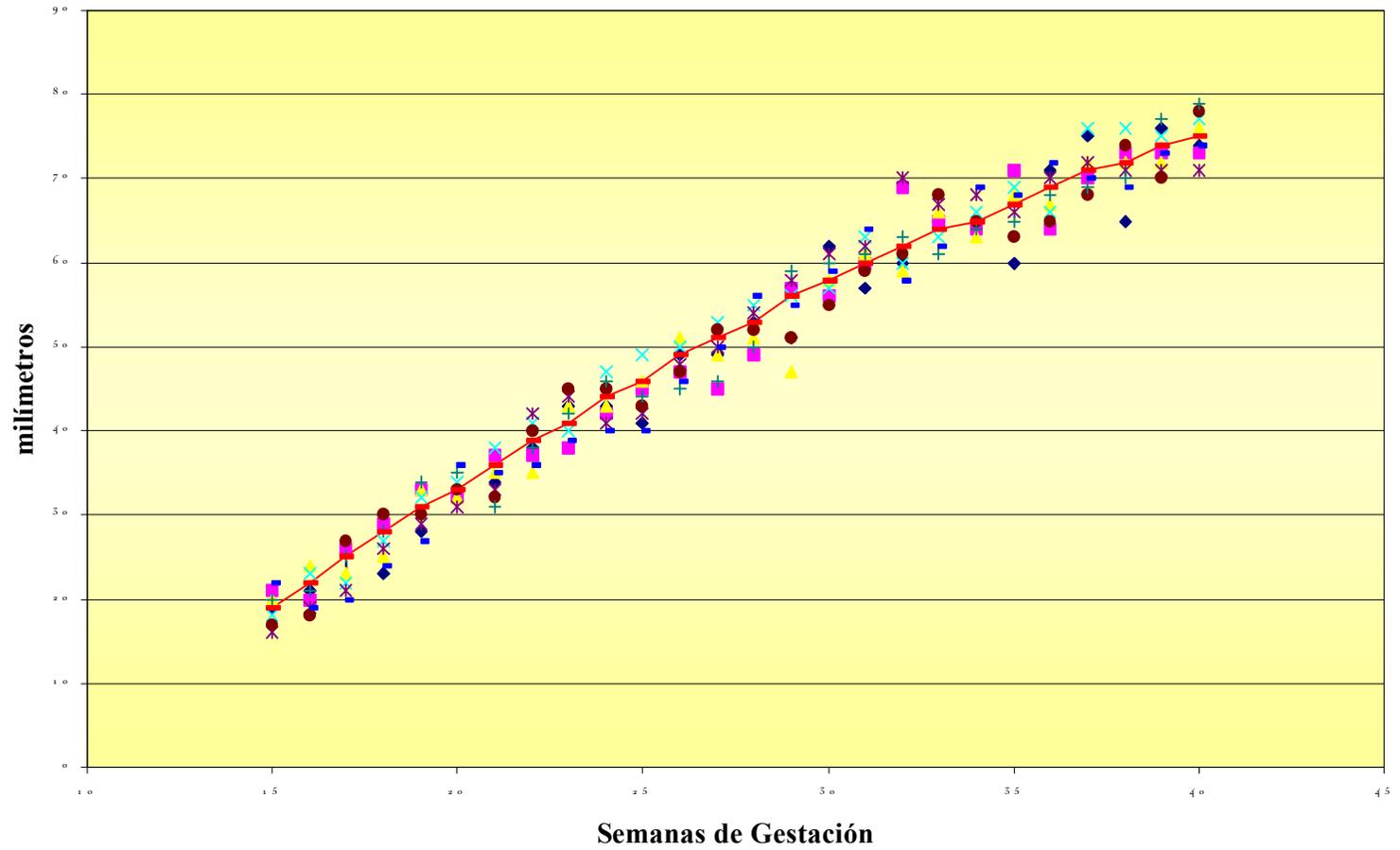
## DIÁMETRO ABDOMINAL



**Gráfico 22.**-Evolución de la biometría abdominal, del diámetro transversal del feto, durante la gestación (se ha reflejado con línea roja el percentil 50).



## LONGITUD FEMORAL



**Gráfico 23.-** Evolución de la biometría femoral del feto a lo largo de la gestación (se ha reflejado con línea roja el percentil 50).



**IIC.- PARTO**

La edad gestacional media de finalización del embarazo fue de 38 semanas (rango 31- 42.3 semanas, Desviación estándar 2.59).

En la tabla 49 se describe el motivo de ingreso en el momento de la finalización de la gestación. En la gran mayoría (85.71%; n: 24 casos) el inicio del trabajo de parto fue espontáneo.

<b>MOTIVO DEL INGRESO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Trabajo de parto a término con bolsa íntegra	13	46.42
Trabajo de parto a término con bolsa íntegra y L.A. teñido	1	3.57
Trabajo de parto a término con bolsa rota	9	32.14
Trabajo de parto pretérmino y bolsa íntegra	4	14.28
Trabajo de parto pretérmino con bolsa rota	-	-
Cesárea electiva Macrosomía e Hidramnios (a término y bolsa íntegra)	1	3.57

**Tabla 49.-** Distribución de los diferentes motivos de ingreso. L.A.: líquido amniótico.

El número de partos con edad gestacional inferior a las 37 semanas, pretérmino, fueron 4. En la tabla 50 se describen cada uno los partos pretérminos, motivo del ingreso, tratamiento antirretroviral y forma de finalización.

<b>EG</b>	<b>Motivo del Ingreso</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Finalización</b>	<b>Peso (g)</b>
31	Trabajo de parto y bolsa íntegra, presentación podálica	STR Metadona	Cesárea	1390
34.2	Trabajo de parto y bolsa íntegra	STR Metadona	Vaginal	1900
36	Trabajo de parto y bolsa íntegra	STR	Vaginal	2600
36.2	Trabajo de parto y bolsa íntegra	TR	Vaginal	2240

**Tabla 50.-** Partos pretérminos, motivo de ingreso, tratamiento, finalización y peso del recién nacido. E.G.: Edad gestacional en el momento del parto. STR: no terapia con antirretrovirales. TR: terapia con antirretrovirales. g: gramos.

La dilatación transcurrió en la totalidad de las pacientes bajo monitorización externa tanto de la frecuencia cardiaca fetal como de la dinámica uterina. El control de la frecuencia cardiaca fetal durante el proceso de dilatación se refiere como normal salvo en dos de las gestantes (7.14%) en las que describen, durante la fase final del parto y expulsivo, la aparición de desaceleraciones precoces leves- moderadas que requirieron simplemente la observación para uno de los casos, y la aplicación de fórceps en el otro. Este último caso comprendía a una gestante con una cesárea anterior y desaceleraciones precoces de carácter

## Resultados

moderado en el expulsivo, motivo por el cual se encontró justificado abreviar el expulsivo.

Se utilizó la *oxitocina* para la conducción del parto en 7 ocasiones (25%) no pasando nunca de la dosis de 4 mU/minuto.

En el 60% se utilizó la *meperidina* por vía intravenosa y en un 21% *tramadol* vía intravenosa como analgesia durante el desarrollo del trabajo de parto.

La duración media del parto, desde el momento de su ingreso hasta el nacimiento del recién nacido, fue de 5 horas 38 minutos (rango 1 hora y 30 minutos - 8 horas y 25 minutos, desviación estándar 138 minutos). En la tabla 51 se recoge el tiempo medio ocupado en alcanzar las distintas fases del parto.

Período de Parto	Media	Rango	D.S.
2 cm- 4 cm	182.58 minutos	44-290 minutos	93.97
4 cm- Completa	160.87 minutos	15-345 minutos	95.86
Expulsivo	29.24 minutos	5-53 minutos	14.77

**Tabla 51.-** Describimos la duración media de cada período del parto. D.S.: desviación estándar.

El tiempo de expulsivo fue de media 29 minutos (rango 5-53 minutos, desviación estándar 14.77). En la tabla 52 se muestra la distribución de los minutos de expulsivo en el total de gestantes.

Tiempo Expulsivo	N	%	TR	%	NTR	%
0 minutos: Cesáreas	6	21.43	3	50	3	50
1-15 minutos	8	28.58	2	25	6	75
16-30 minutos	10	35.71	6	60	4	40
31-45 minutos	2	7.14	1	50	1	50
46-60 minutos	2	7.14	2	100	-	-

**Tabla 52.-** Distribución de minutos utilizados en el período expulsivo, diferenciando las gestantes que recibieron terapia de las que no. (TR: terapia antirretroviral; NTR: no terapia antirretroviral).

En el 100% de las pacientes de parto se cumplimentó el protocolo de irrigación vaginal con clorhexidina.

La administración de AZT durante el parto se aplicó en 14 gestantes que corresponden con la totalidad de las pacientes sometidas a tratamiento antirretroviral durante la gestación.

## *Resultados*

El modo en que finalizó el parto fue: vía vaginal en el 78.57% (un solo caso mediante fórceps, indicado por tener una cesárea anterior y por un registro desacelerativo durante el expulsivo); y en el 21.43%, por cesárea. En la tabla 53 se encuentra recogido la forma de finalización del embarazo y en la tabla 54 las indicaciones de las cesáreas.

<b>FINALIZACIÓN DEL PARTO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Espontáneo	21	75
Fórceps	1	3.57
Cesárea	6	21.43

**Tabla 53.-** Forma de finalización del parto.

<b>Indicación de Cesárea</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Electiva:</b>		
-Hidramanios y Macrosomía fetal	1	3.57
<b>Causa Obstétrica:</b>		
-No evolución y presentación cefálica	2	7.14
-No evolución y presentación podálica	1	3.57
-Pródromos de parto y presentación de pies	1	3.57
-Pretérmino podálico y trabajo de parto	1	3.57

**Tabla 54.-** Indicaciones de las cesáreas.

En lo que se refiere a la realización de episiotomía, de los 22 partos que culminaron por vía vaginal en 9 pacientes (40.90%) no se realizó episiotomía. En el resto de los partos vaginales se pudo cumplir siempre el criterio de episiotomía pequeña y tardía.

El tiempo de bolsa rota antes del nacimiento del recién nacido se puede apreciar en la tabla 55 diferenciando además aquellas gestantes que recibieron terapia antirretroviral de las que no.

<b>Tiempo bolsa rota</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>TR</b>	<b>TR%</b>	<b>NTR</b>	<b>NTR%</b>
0 horas	7	25	4	57.14	3	42.86
0-4 horas	13	46.44	8	61.53	5	38.47
4-6 horas	2	7.14	1	50	1	50
6-12 horas	6	21.42	1	16.66	5	83.34

**Tabla 55.-** Tiempo de duración de la rotura de membranas en el momento del nacimiento (TR: terapia antirretroviral, NTR: no terapia antirretroviral).

El líquido amniótico en el momento de finalizar el parto estaba teñido de meconio en tres pacientes (10.71%). En la tabla 56 se muestran los tres casos, las horas de parto y bolsa rota así como la vía de finalización.

## Resultados

Líquido Teñido	Horas de Parto	Horas de bolsa rota	Vía del Parto
Caso 1	5 horas	3 horas 40 minutos	Espontáneo
Caso 2	2 horas 45 minutos	25 minutos	Espontáneo
Caso 3	1 hora	0	Cesárea

**Tabla 56.-** Descripción de la evolución del parto en las gestantes con líquido amniótico teñido.

Con respecto a la patología funicular en nueve fetos se detecto la presencia de alguna circular de cordón, tal y como se describe en la tabla 57.

PATOLOGÍA FUNICULAR	N	%
1 circular de cordón al cuello	7	25
2 circulares de cordón al cuello	1	3.57
1 vuelta de cordón en bandolera	1	3.57

**Tabla 57.-** Patología funicular en el parto.

El tiempo medio de alumbramiento placentario fue de 11.19 minutos (rango 2-35 minutos, desviación estándar 8.16). En la tabla 58 observamos la distribución del tiempo de alumbramiento.

TIEMPO DE ALUMBRAMIENTO	N	%
0-5 minutos	10	21.43
6-10 minutos	4	14.28
11-15 minutos	5	17.87
16-20 minutos	2	7.14
21-25 minutos	-	-
26-30 minutos	-	-
31-35 minutos	1	3.57

**Tabla 58.-** Distribución de tiempo de alumbramiento placentario.

El peso medio de la placenta fue de 463.33 gramos (rango 350-520 gramos, desviación estándar 196.33).

Y el modo de desprendimiento placentario se describe como tipo Duncan en 10 casos, Schultze en 11 casos y manual en los 7 restantes (6 en cada una de las cesáreas y 1 caso tras el fórceps para la revisión de la cicatriz uterina de la cesárea anterior). En la tabla 59 queda recogido el tipo de alumbramiento en los partos vaginales.

## Resultados

<b>MODO DE ALUMBRAMIENTO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Duncan	10	45.45
Schultze	11	50
Manual	1	4.55

**Tabla 59.-** Tipo de alumbramiento en los partos vaginales.

Del total de recién nacidos se obtuvieron 10 varones y 18 mujeres.

El peso medio de los recién nacidos fue de 3063.04 gramos (rango 1390-4850 gramos, desviación estándar 733.90). Se consideraron postnatalmente como distróficos a cuatro recién nacidos (14.28%) cuyos pesos y edades gestacionales se muestran en la tabla 60. De estos recién nacidos distróficos fueron diagnosticados 3 prenatalmente por ecografía.

<b>EG</b>	<b>PESO</b>	<b>GRUPO</b>	<b>FINALIZACIÓN</b>
31 semanas	1390 g	STR	Cesárea por pródromos de parto y presentación de pies
34.2 semanas	1900 g	STR	Vaginal
36.2 semanas	2240 g	TR	Vaginal
39.2 semanas	2485 g	STR	Vaginal
39.3 semanas	2430 g	STR	Vaginal

**Tabla 60.-** Recién nacidos distróficos: peso, tratamiento y finalización del parto. EG: Edad gestacional en el momento del parto. g: gramos. STR: sin terapia antirretroviral. TR: terapia antirretroviral.

El apgar medio en el primer minuto osciló entre 6 y 10, y el de los 5 minutos entre 7 y 10. En la tabla 61 mostramos la distribución de frecuencia del apgar tomado en el primer minuto de vida y a los cinco minutos. El apgar al minuto y a los cinco minutos fue superior a 7, en ambos casos, en 25 recién nacidos (89.28%). El 100 % tenían apgar superior a 7 a los 5 minutos.

<b>APGAR 1° MINUTO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>APGAR 5° MINUTO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>6</b>	3	10.71	<b>7</b>	1	3.57
<b>8</b>	1	3.57	<b>8</b>	2	7.14
<b>9</b>	23	82.15	<b>9</b>	23	82.15
<b>10</b>	1	3.57	<b>10</b>	2	7.14

**Tabla 61.-** Test de Apgar realizado en el momento del parto: al minuto y a los cinco minutos.

### III.- RESULTADOS ANATOMO-PATOLÓGICOS

Analizamos un total de 42 placentas, 14 de las gestantes que no continuaron con la gestación, y 28 de las que decidieron seguir con el embarazo. En la tabla 62 se muestran los resultados encontrados en el análisis anatomopatológico de las placentas tanto de las interrupciones del embarazo como de aquellas pacientes que decidieron continuar con la gestación. Mientras que en las tablas 63 y 64 se describen de forma específica cada una de las placentas sometidas a estudio.

En las imágenes número 1 a número 12 se muestran las diferentes lesiones placentarias.

ANATOMÍA-PATOLÓGICA	GESTANTES		I.V.E.	
	N	%	N	%
Villitis leucocitaria	2	7.14	2	14.28
Villitis necrotizante	-	-	2	14.28
Corionitis	7	25	-	-
Necrosis o infarto	9	32.14	4	28.57
Vasculitis	-	-	-	-
Calcificaciones	22	78.57	1	7.14
Aumento de la Membrana Basal	-	-	-	-
Aumento en las Células de Hofbauer	3	10.71	-	-

**Tabla 62.-** Distribución de frecuencia de cada uno de los parámetros anatomopatológicos estudiados en el grupo de placentas de pacientes que continuaron con su embarazo (gestantes) y las que lo interrumpieron (I.V.E.).

### IV.- RESULTADOS DE LA HIBRIDACIÓN *IN SITU*

Analizamos 6 fetos procedentes de pacientes sometidas a una interrupción del embarazo, un grupo de 8 muestras de restos ovulares producto de las gestaciones interrumpidas, y un conjunto de 20 tomas de tejido placentario de pacientes que decidieron continuar con la gestación. En total se sometió a técnicas de hibridación *in situ* a 34 muestras de tejidos.

En ningún caso se pudo evidenciar la presencia de VIH en estos tejidos.

En las fotografías que van desde el número 13 al 32 quedan recogidas las muestras placentarias sometidas a estudio de hibridación *in situ*.

## **V.- SEGUIMIENTO DEL RECIÉN NACIDO**

En el momento del nacimiento se inició la pauta de inmunoprofilaxis y vacunación contra la hepatitis B a aquellos niños cuya madre presentaba serología positiva para la misma. En 10 casos (35.71%) comenzó la administración del protocolo ACTG 076 que mantuvieron durante seis semanas. En cuatro casos incluidos en el protocolo ACTG 076 sus padres no desearon continuar el tratamiento del recién nacido postnatalmente.

Los 28 niños fueron controlados gracias a la colaboración del Servicio de Pediatría. Inicialmente fueron valorados trimestralmente hasta el primer año, luego cada 6 meses hasta cumplir los 24 meses, y finalmente controles anuales, en algunos casos hasta los 7 años.

Todos ellos siguieron un control determinando en cada visita el crecimiento estatura-ponderal de acuerdo con las Curvas de Crecimiento de Hernández, además de un seguimiento analítico de hemograma, poblaciones linfocitarias, serológico de acuerdo a lo establecido previamente.

En el momento del nacimiento el hemograma de control sólo detectó un caso de anemia leve entre los recién nacidos para lo que se pautó al alta hospitalaria la administración de hierro. Como antecedente a destacar, la madre seguía el protocolo ACTG 076.

No se objetivó la presencia de ningún tipo de malformación tanto para los recién nacidos cuyas madres recibieron terapia antirretroviral como los que no.

Un niño requirió tratamiento por un cuadro de agitación que fue etiquetado de síndrome de abstinencia.

A los 6 meses todavía se detecta positividad frente al anticuerpo contra el VIH en cuatro casos, éste se negativiza a los 9 meses. A los 12 meses resultan negativas todas las pruebas serológicas del VIH.

El crecimiento en todos ellos se mantiene entre los percentiles 25 al 95.

Entre el grupo de niños que reciben terapia antirretroviral no se producen alteraciones del hemograma, bioquímica, ni se registran efectos adversos asociados a la administración de estos fármacos. En cuanto a patología neoplásica, se registró una muerte infantil a los 5 años de edad por leucemia en una niña, su madre no recibió terapia antirretroviral.

La totalidad de niños recibe la vacunación según el calendario vigente, y no refieren más que las enfermedades propias de la infancia.

La escolarización ha sido adecuada. No se ha detectado a largo plazo signos que pudiesen estar asociados a sintomatología neurológica.



<b>Paciente</b>	<b>Villitis necrotizante</b>	<b>Villitis leucocitaria</b>	<b>Necrosis ó Infarto</b>	<b>Vasculitis</b>	<b>Corionitis</b>	<b>Calcificaciones</b>	<b>Aumento de la membrana basal</b>	<b>Aumento de las células de Hofbauer</b>
1	-	-	-	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	-	-
6	-	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	<b>Sí</b>
7	-	-	-	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-
8	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
9	-	-	<b>Sí</b>	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	<b>Sí</b>
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	-	-
13	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
14	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
15	-	-	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	<b>Sí</b>	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-
19	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
20	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
21	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
22	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
23	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
24	-	-	-	-	-	<b>Sí</b>	-	-
25	-	-	-	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	<b>Sí</b>
26	-	<b>sí</b>	<b>Sí</b>	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-
27	-	-	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	-	-
28	-	-	<b>Sí</b>	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-

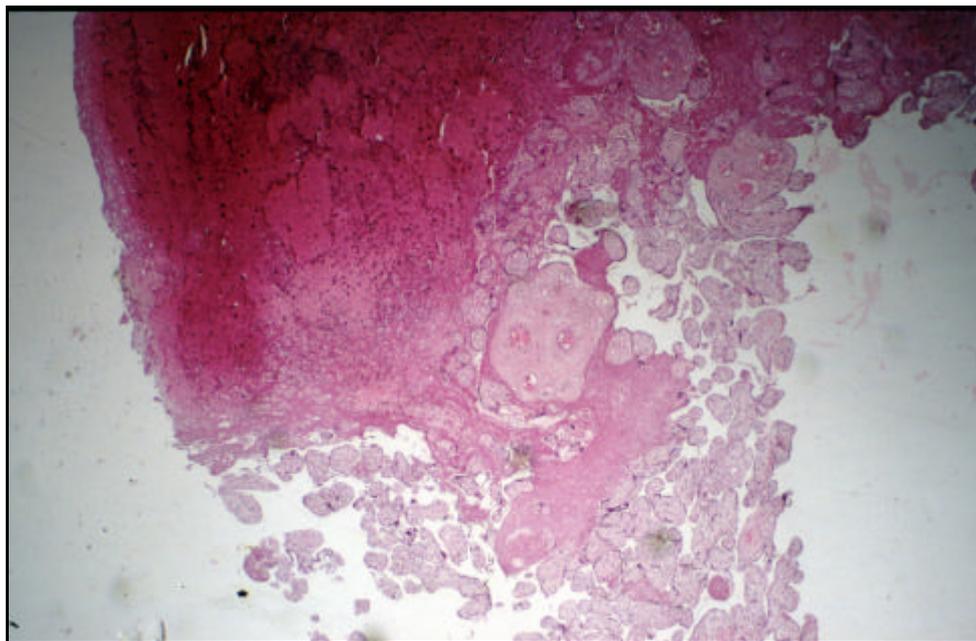
**Tabla 63.-** Estudio anatómico-patológico bajo microscopía óptica de las placentas de gestantes VIH que continuaron la gestación



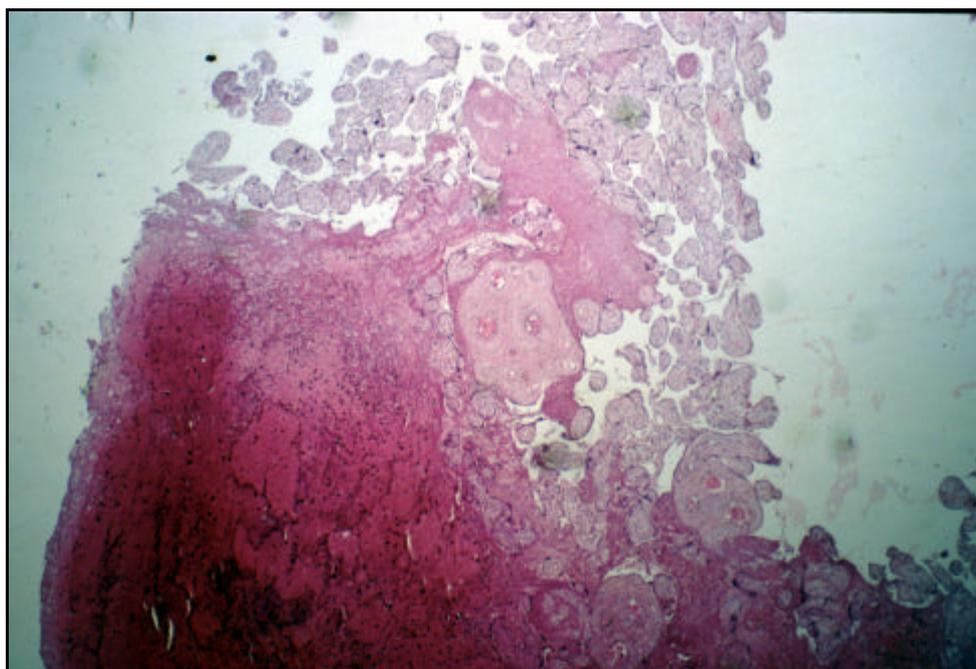
<b>Paciente</b>	<b>Villitis necrotizante</b>	<b>Villitis leucocitaria</b>	<b>Necrosis ó Infarto</b>	<b>Vasculitis</b>	<b>Corionitis</b>	<b>Calcificaciones</b>	<b>Aumento de la membrana basal</b>	<b>Aumento de las Células de Hofbauer</b>
1	-	-	<b>Sí</b>	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-	<b>Sí</b>	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Decidua con inflamación							
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	<b>Sí</b>	-	-	-	-	-
9	-	-	<b>Sí</b>	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	<b>Sí</b>	-	-	-	-	-	-	-
14	<b>Sí</b>	<b>Sí</b>	-	-	-	-	-	-

**Tabla 64.-**Estudio anatómo-patológico de la .placentas y restos ovlulares en las gestantes que interrumpieron la gestación.



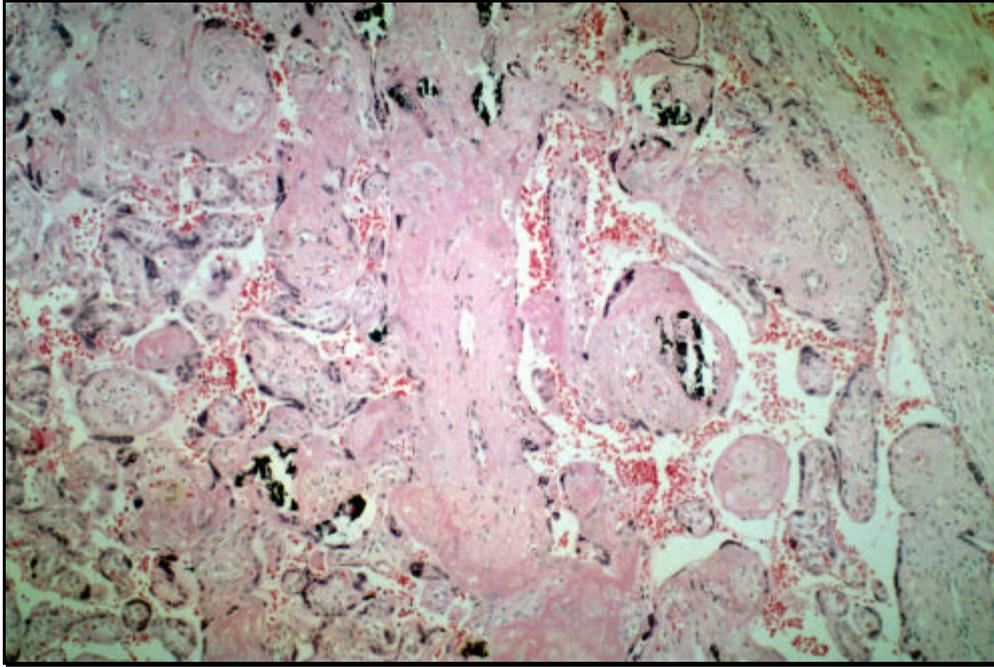


**Fotografía 1.**-Tejido placentario con técnica Hematoxilina-Eosina. (x20).  
Imagen de infarto dentro de la vellosidad placentaria: caso número 15.

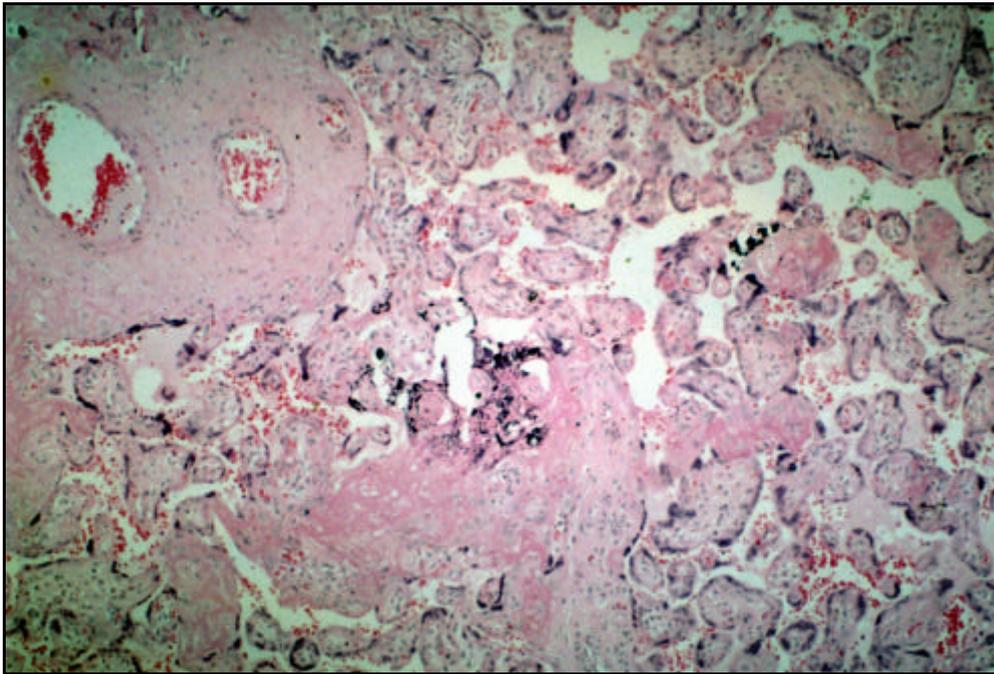


**Fotografía 2.**-Tejido placentario con técnica Hematoxilina-Eosina. (x20).  
Imagen de infarto dentro de la vellosidad placentaria con área de hemorragia:  
caso número 12.



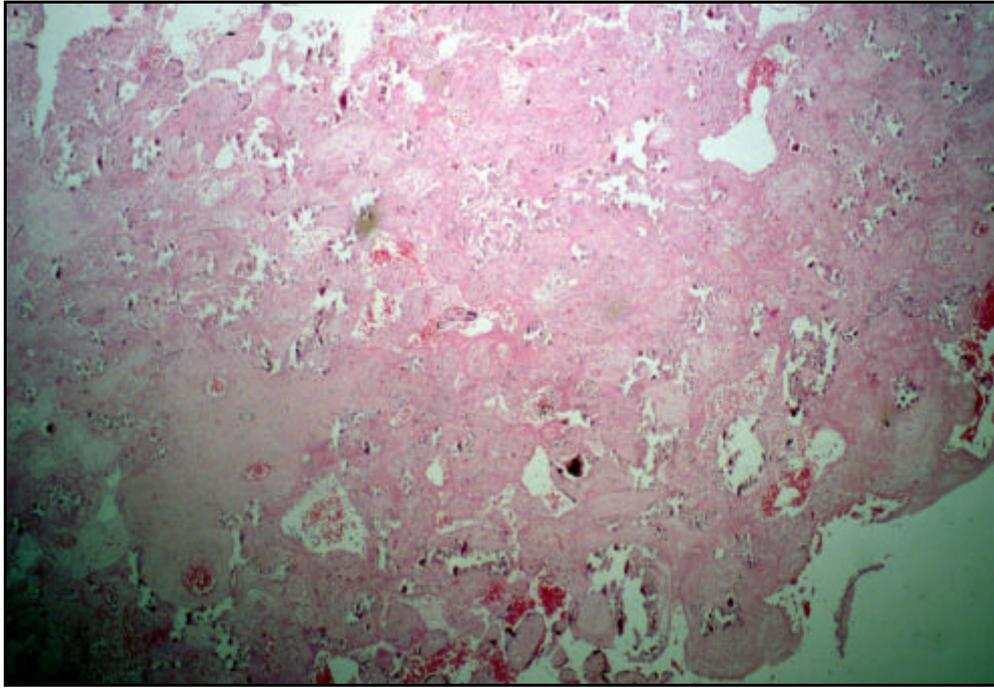


**Fotografía 3.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x40).  
Áreas de Calcificación dentro del corte placentario: caso número 14.

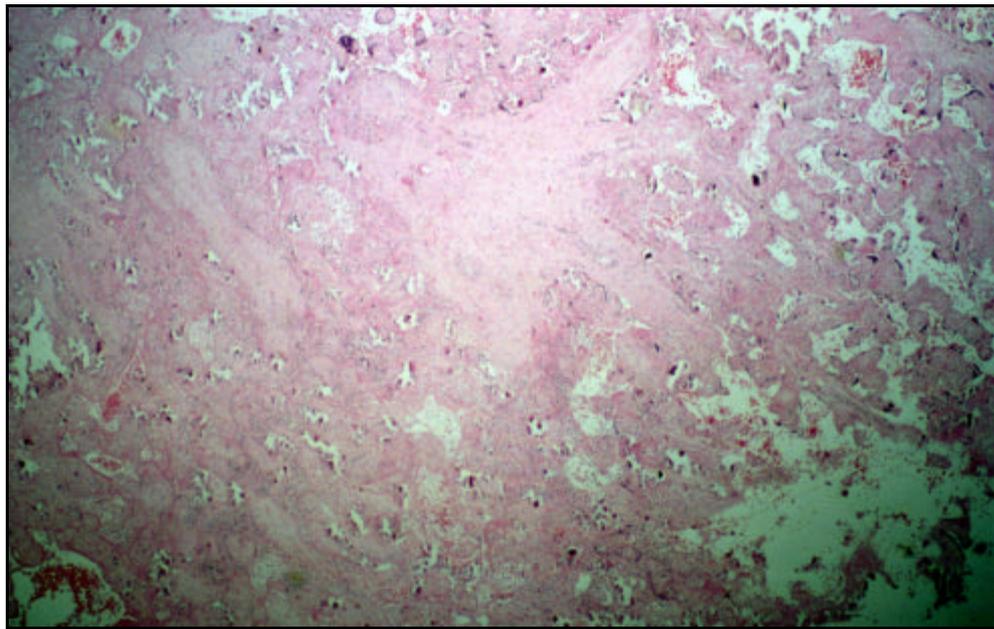


**Fotografía 4.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x40).  
Áreas de Calcificación y Necrosis: caso número 3.





**Fotografía 5.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x20).  
Áreas de Necrosis: caso número 5.

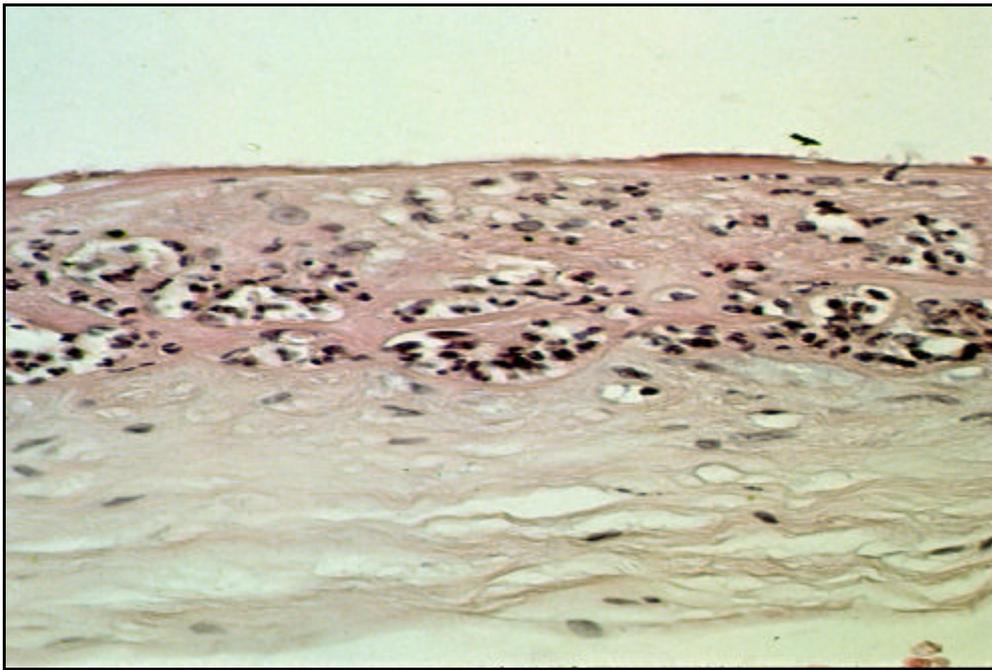


**Fotografía 6.**-Tejido placentario con la técnica de Hematoxilina-Eosina (x20).  
Área de Necrosis: caso número 18.



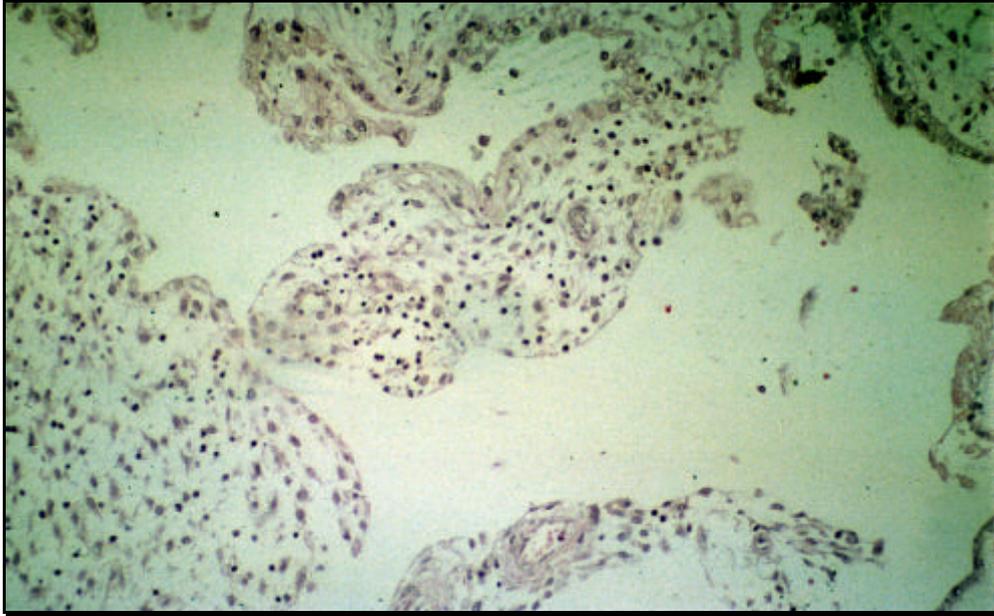


**Fotografía 7.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x40).  
Imagen de Amnionitis: caso número 7.

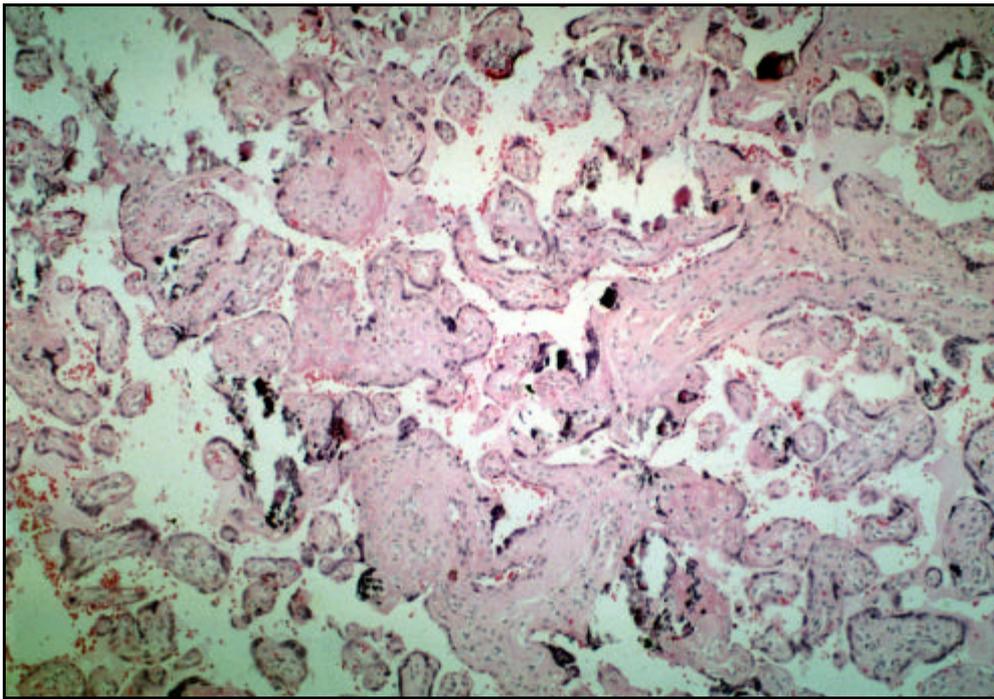


**Fotografía 8.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x100).  
Imagen de Amnionitis: caso número 1.



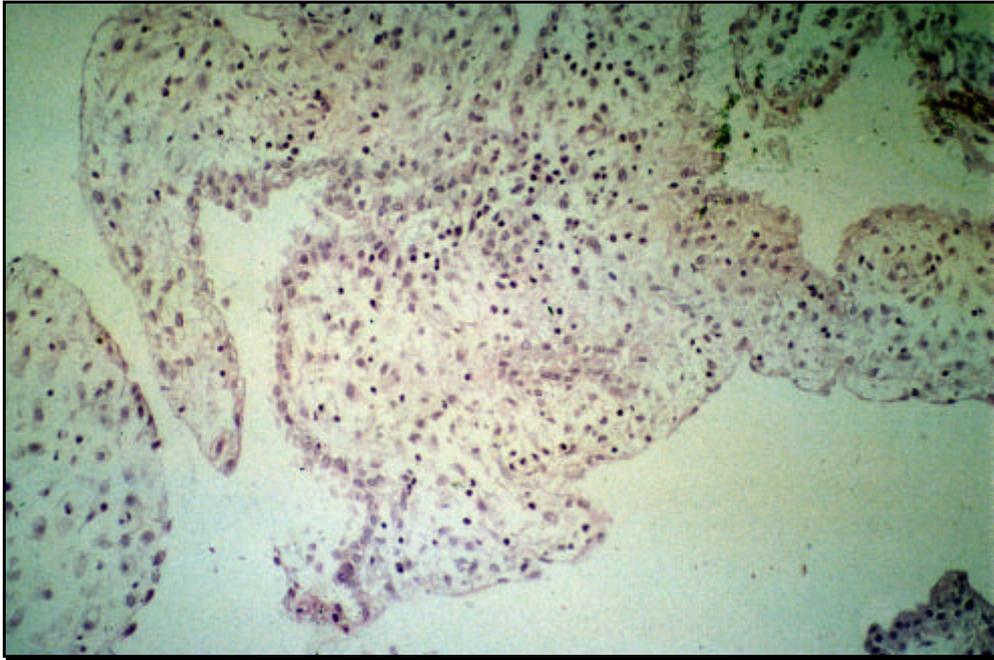


**Fotografía 9.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x40).  
Presencia de Células de Hofbauer: caso número 25.

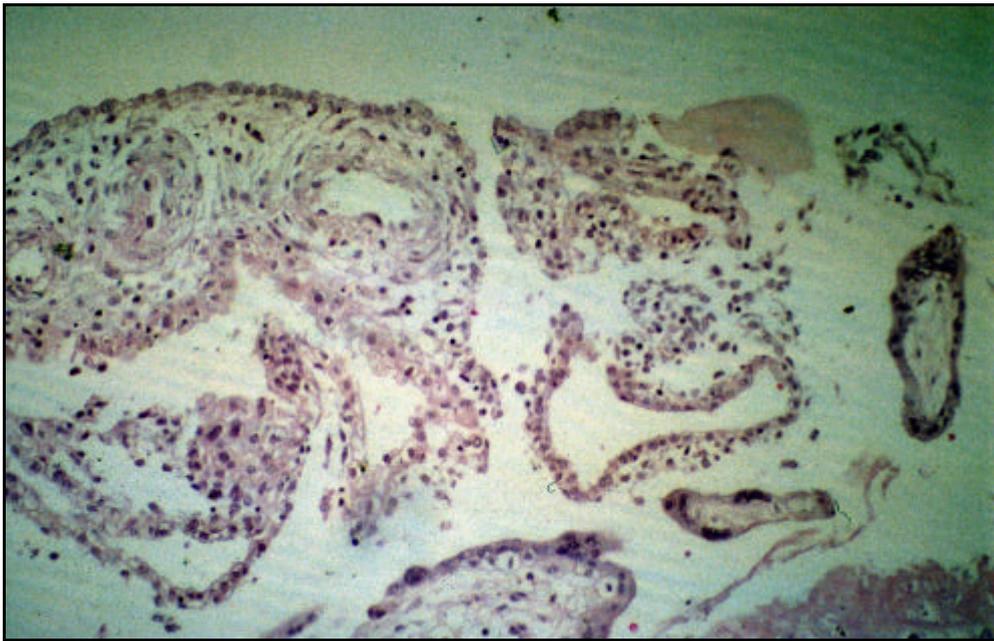


**Fotografía 10.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x40).  
Áreas de Calcificación: caso número 27.



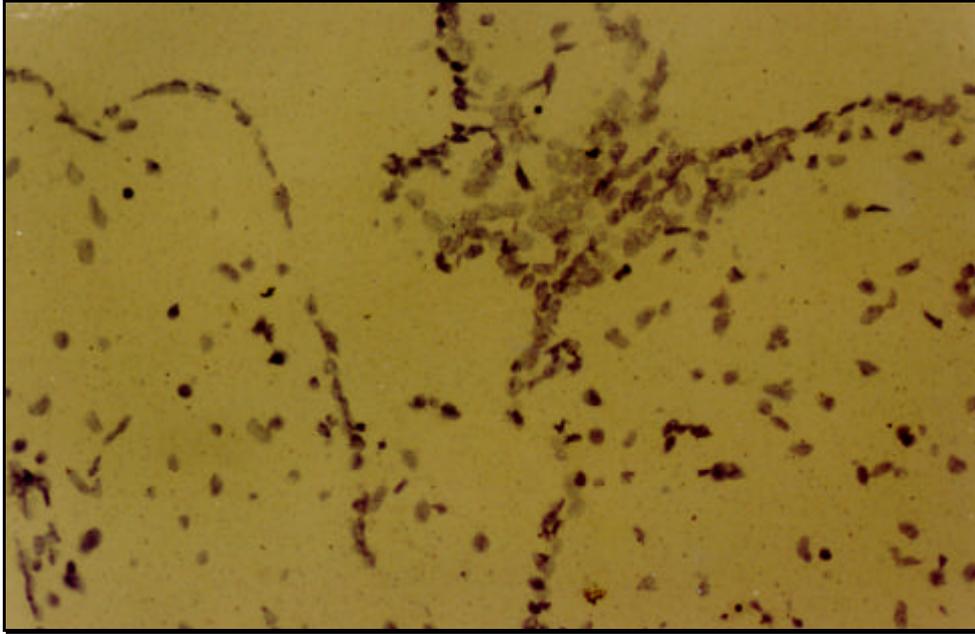


**Fotografía 11.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x20).  
Área de Villitis: caso número 26.

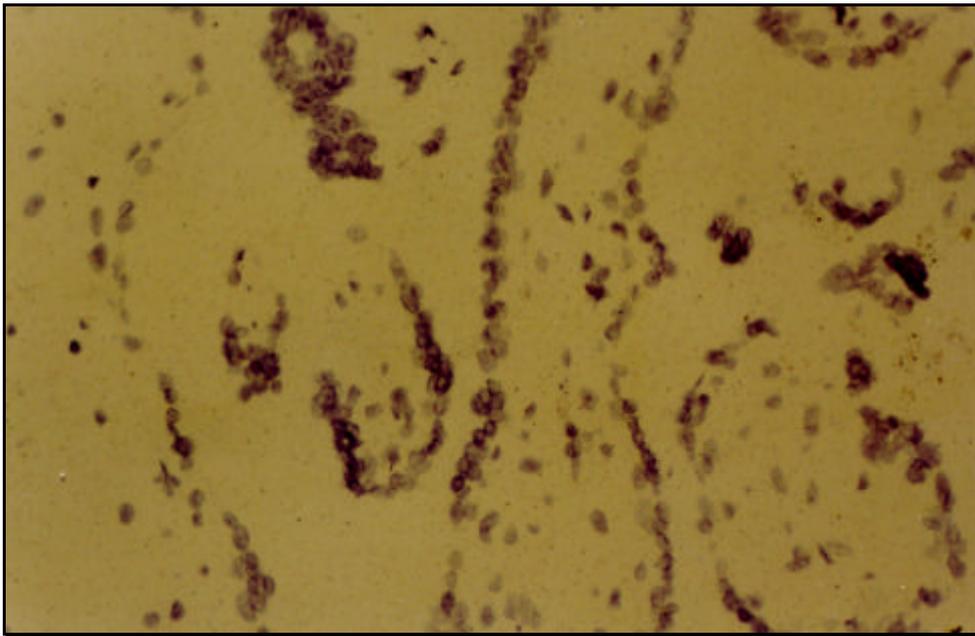


**Fotografía 12.**-Tejido placentario con técnica de Hematoxilina-Eosina (x40).  
Área de Villitis: caso número 6.



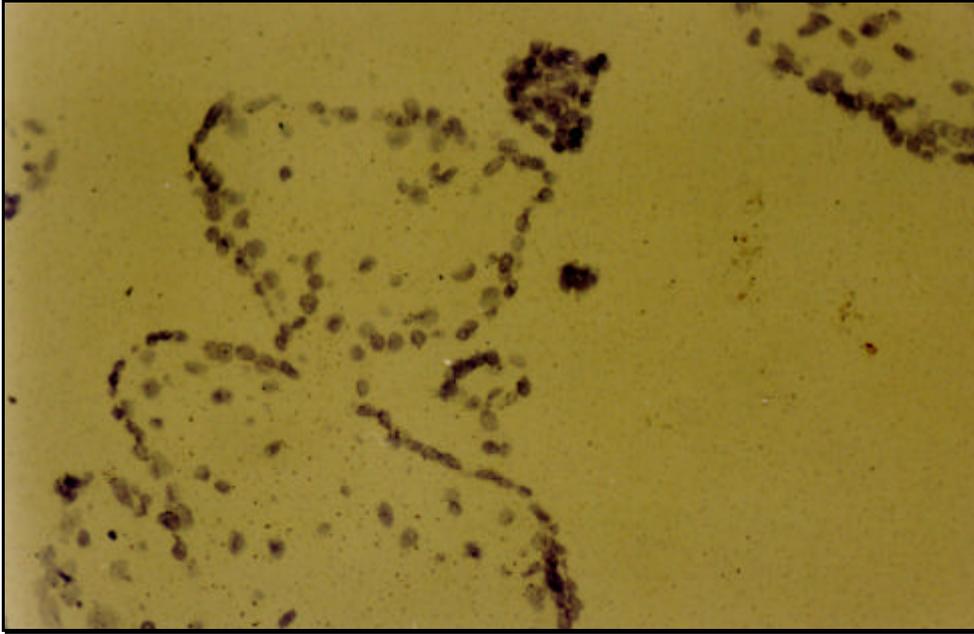


**Fotografía 13.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 1 (x20).

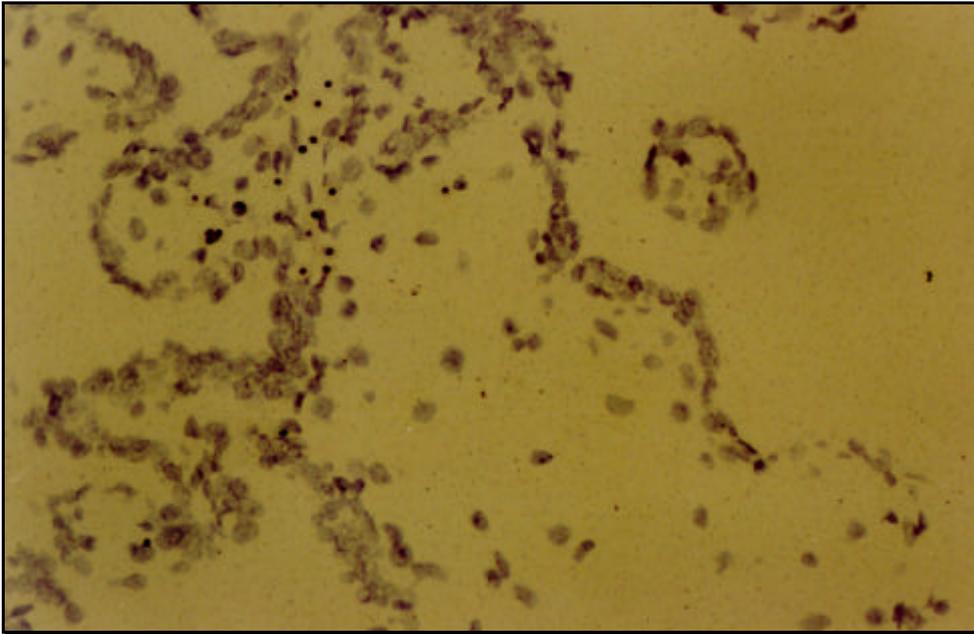


**Fotografía 14.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 2 (x20).



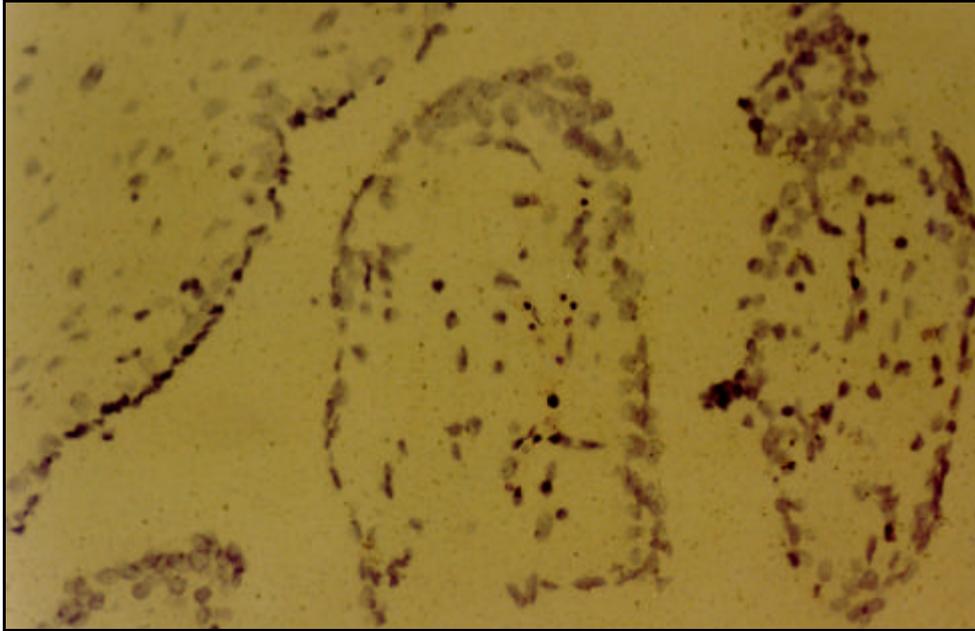


**Fotografía 15.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 3 (x20).

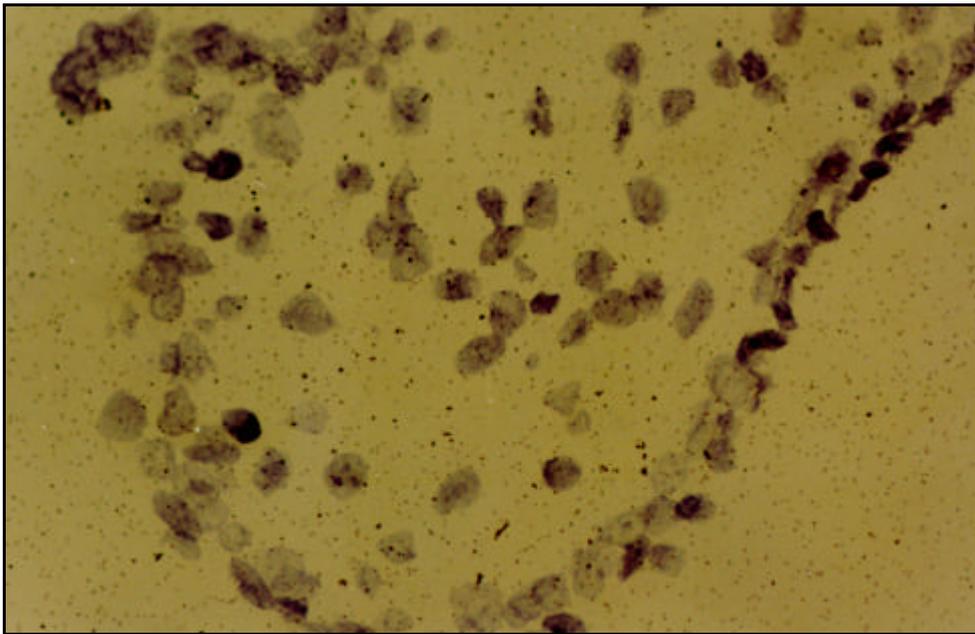


**Fotografía 16.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 4 (x20).



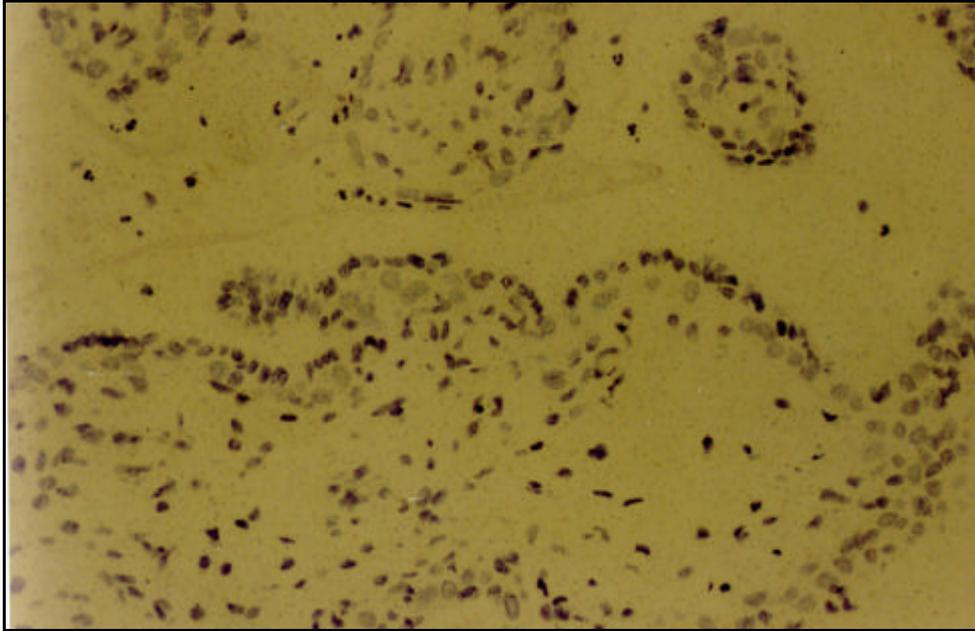


**Fotografía 17.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 5 (x20).

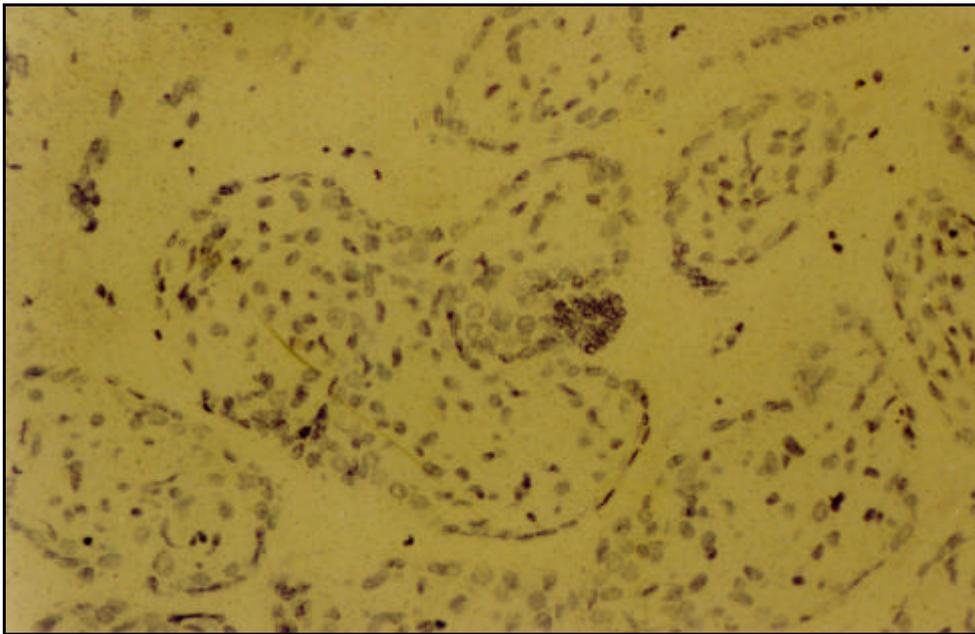


**Fotografía 18.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 6 (x40).



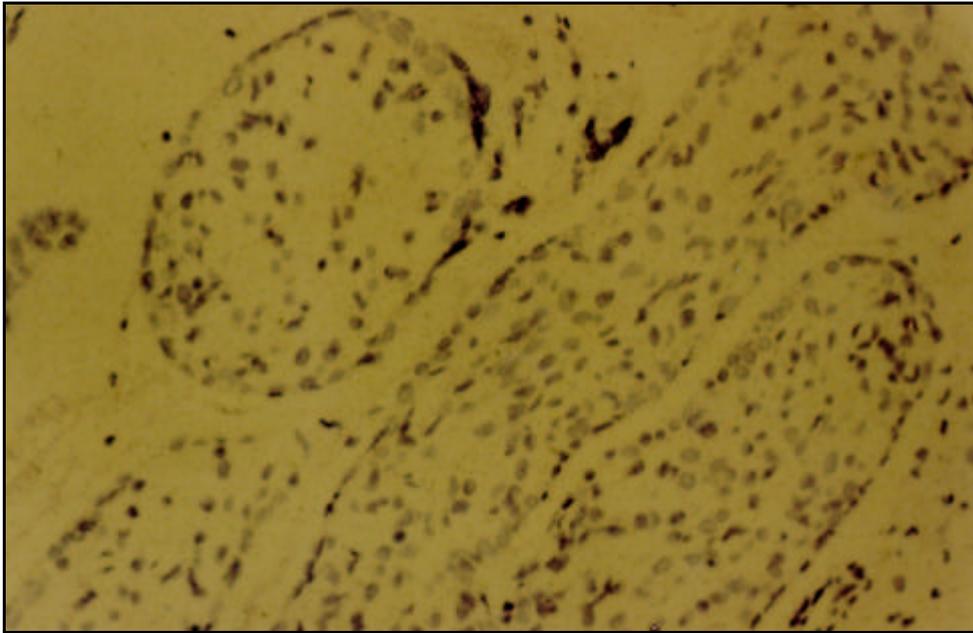


**Fotografía 19.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 7 (x20).

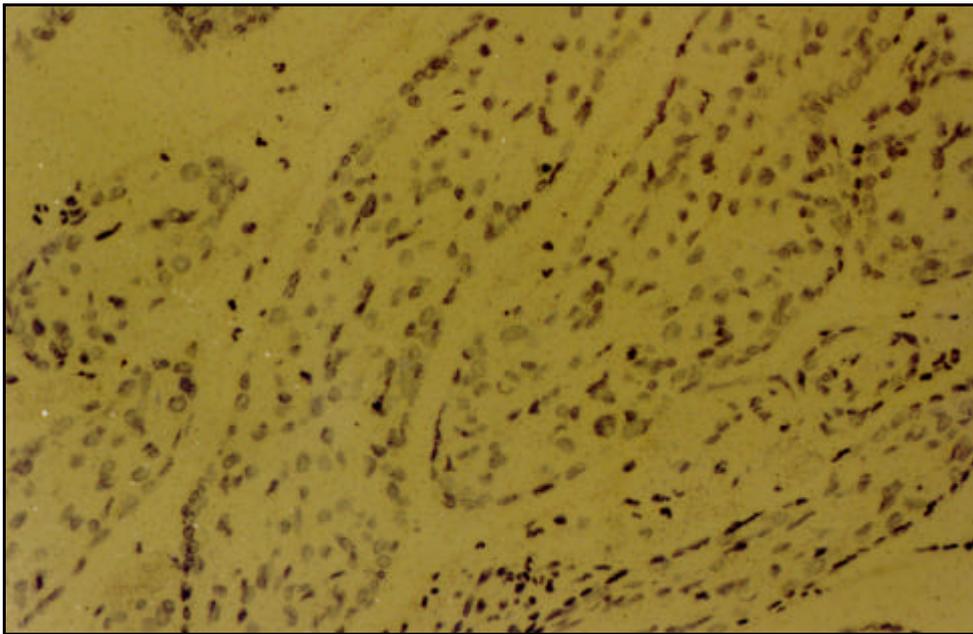


**Fotografía 20.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 8 (x20).



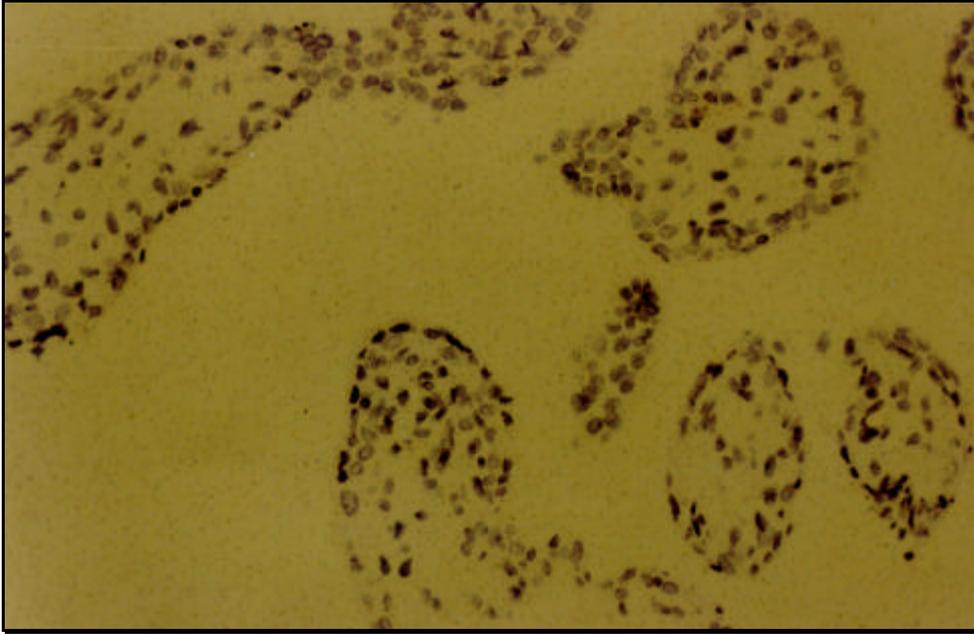


**Fotografía 21.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 9 (x20).

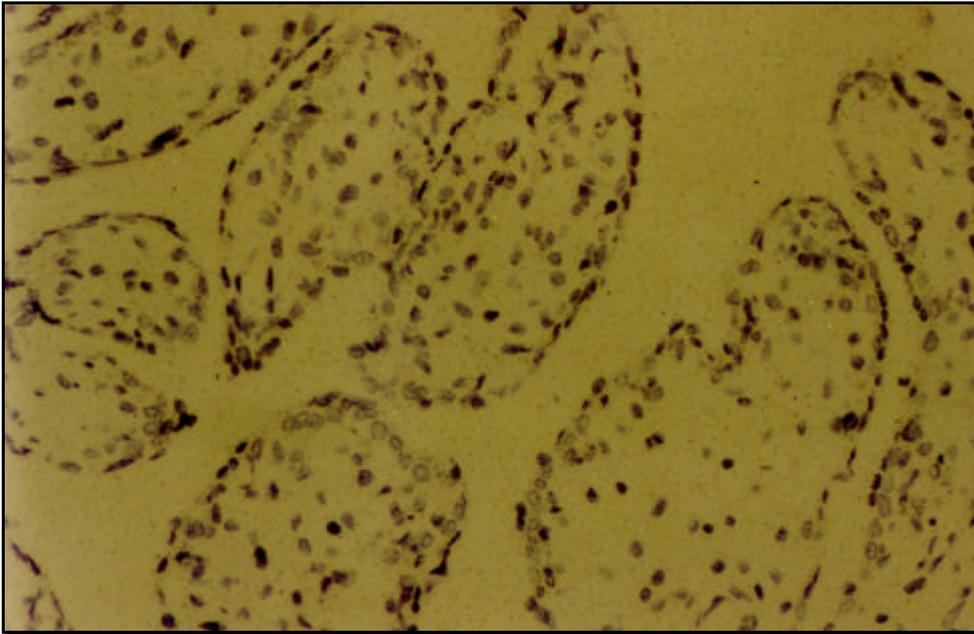


**Fotografía 22.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 10 (x20).



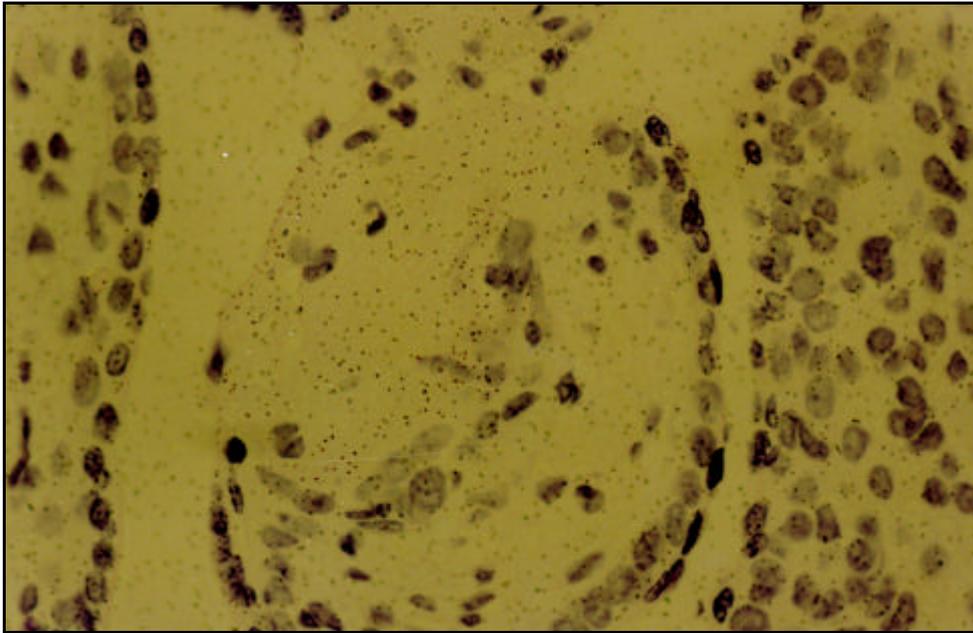


**Fotografía 23.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 11 (x20).

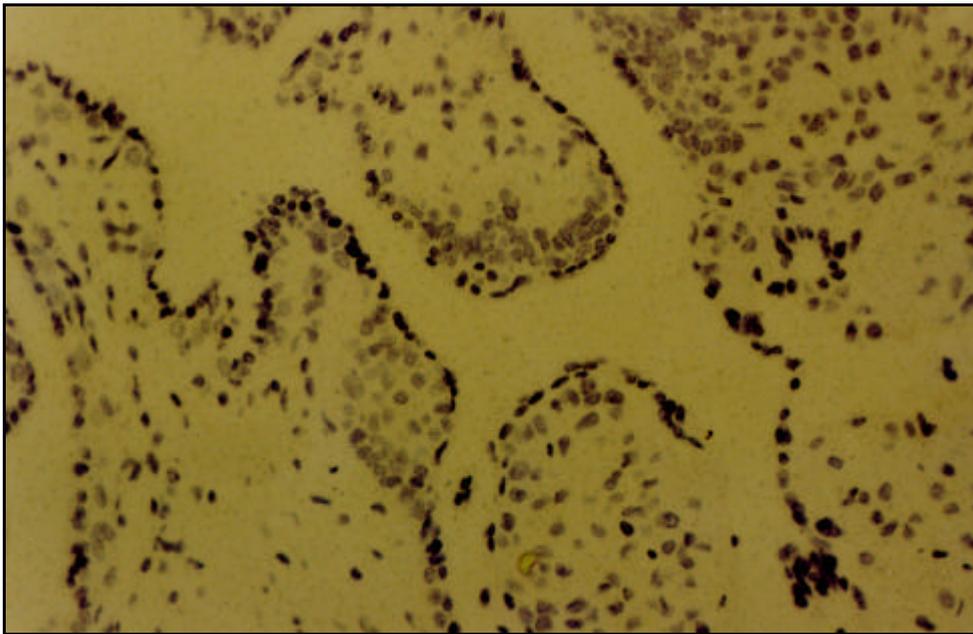


**Fotografía 24.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 12 (x20).



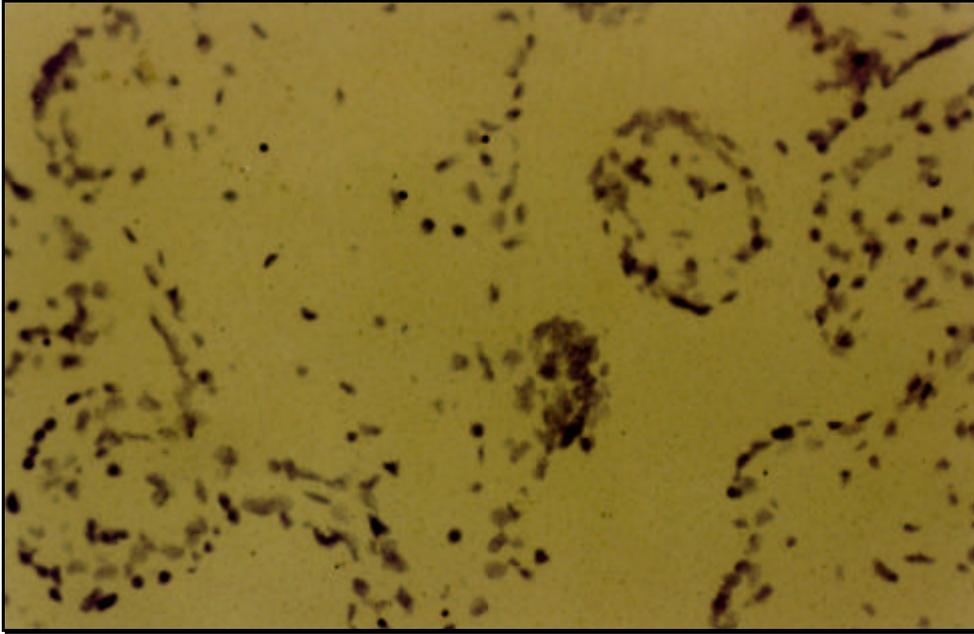


**Fotografía 25.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 13 (x40).

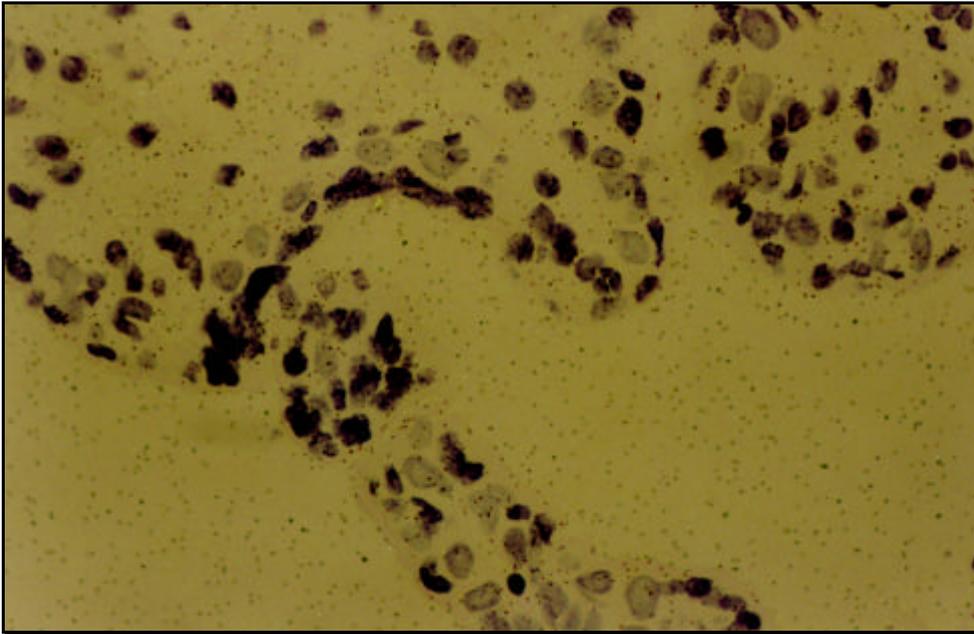


**Fotografía 26.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 14 (x20).



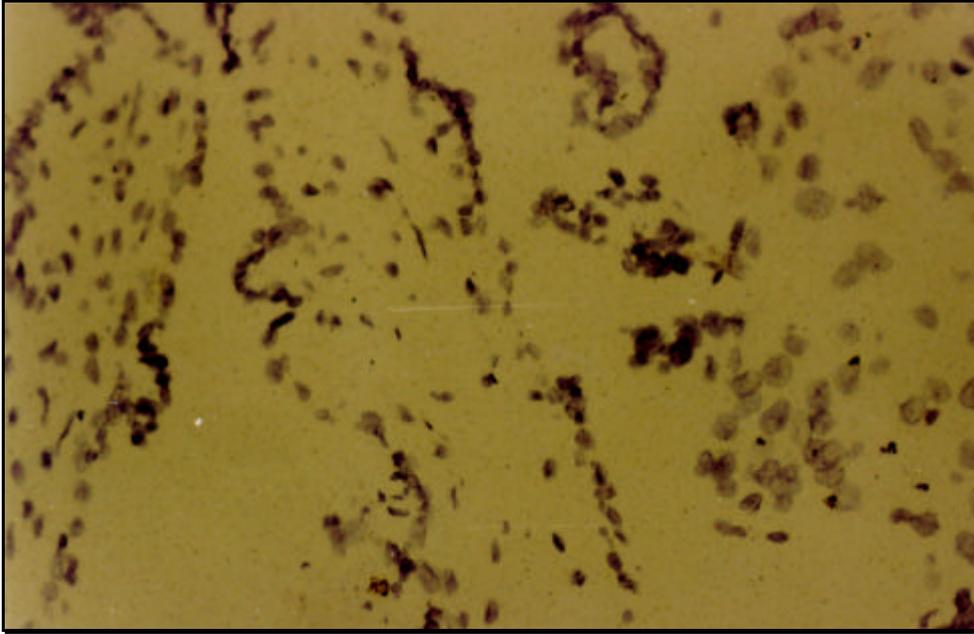


**Fotografía 27.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 15 (x20).

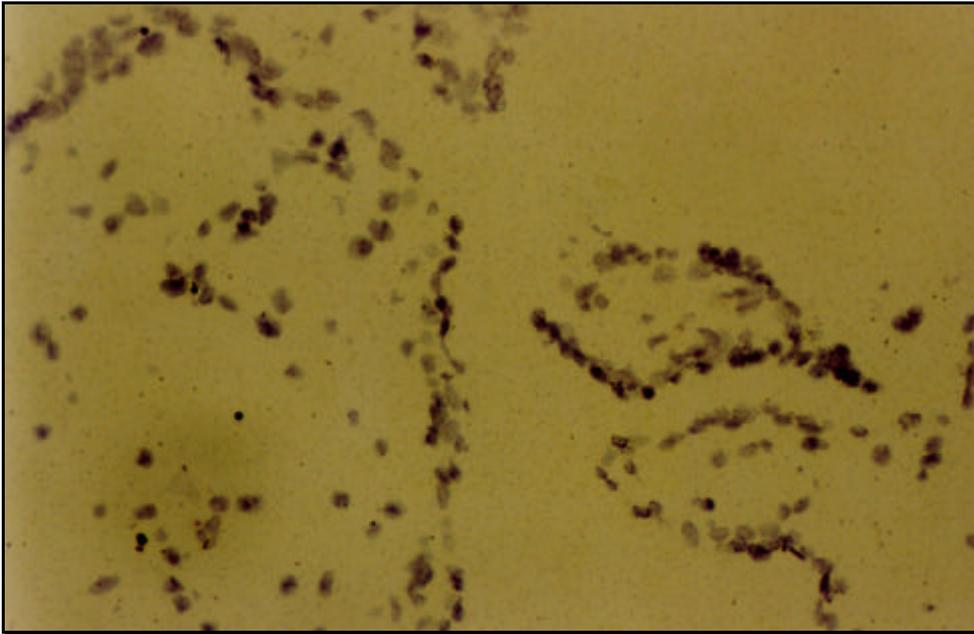


**Fotografía 28.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 16 (x40).



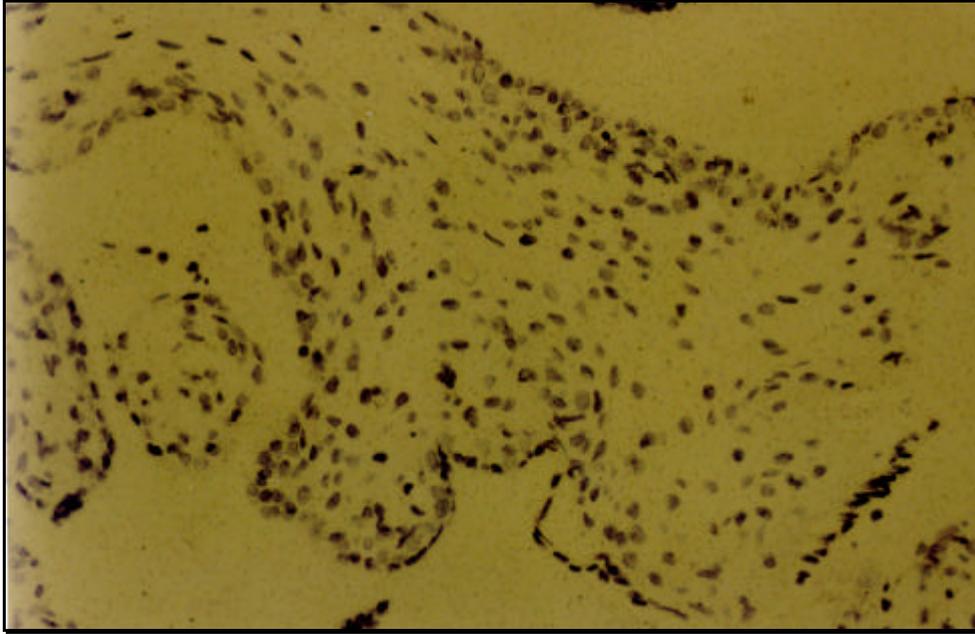


**Fotografía 29.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 17 (x20).

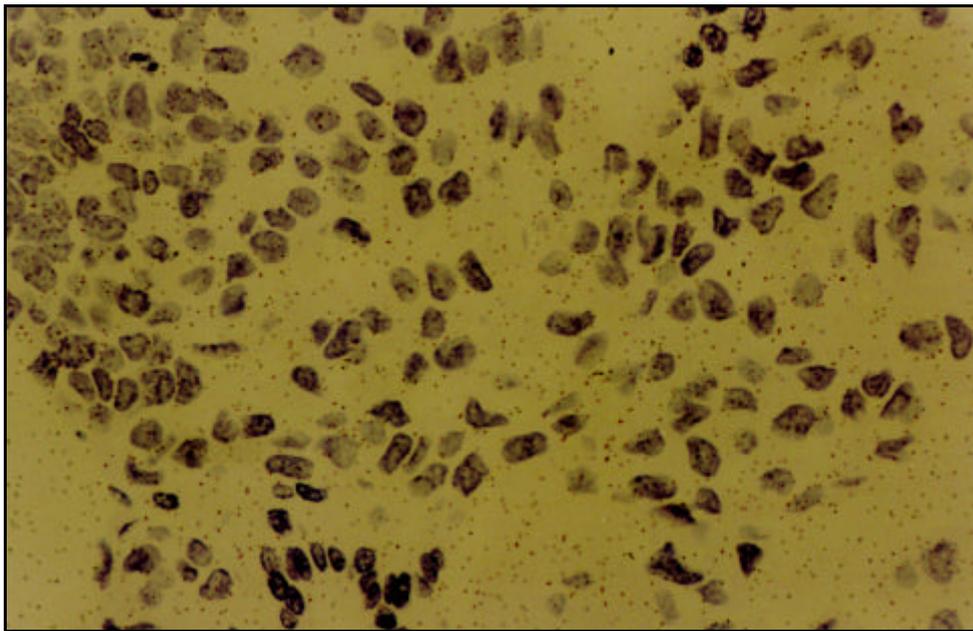


**Fotografía 30.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 18 (x20).





**Fotografía 31.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 19 (x20).



**Fotografía 32.**-Imagen de HIS. Corte placentario correspondiente al caso 20 (x40).

## ***DISCUSIÓN***

---

Dada la diversidad de aspectos (clínicos, analíticos, anatomopatológicos, biológico-moleculares, etc.) que debemos desarrollar en la discusión de nuestro trabajo y para conseguir una mejor presentación de los mismos, contemplaremos diferentes apartados que serán expuestos a continuación.

## **I.-ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS**

El Hospital Universitario de Canarias, situado en el municipio de La Laguna de la isla de Tenerife, es un hospital de carácter terciario que se encarga de la asistencia médica del sector norte de la isla, con una población total asignada de aproximadamente 306.000 habitantes y hospital de referencia para la población de la isla de La Palma, tanto a efectos de urgencia y hospitalización, como de apoyo a especialidades para la atención de patologías que sobrepasen el nivel de recursos ofrecido en la citada isla, para lo que se vale de un total de 636 camas.

El Servicio de Obstetricia y Ginecología dispone de un módulo de consulta externa especializada en gestantes con toxicomanías y gestantes portadoras del VIH. Por otro lado el Hospital cuenta con una unidad de tratamiento de drogodependientes a cargo de los Servicios de Psiquiatría y Medicina Interna, donde los pacientes pueden ingresar para efectuar tratamientos de desintoxicación y durante el cual además se realiza despistaje de enfermedades infecciosas como el VIH. La procedencia de nuestras gestantes portadoras del virus es multicéntrica. En el servicio de Medicina Interna existe una sección especializada que brinda tratamiento y seguimiento a pacientes seropositivos. Algunos de los casos recogidos fueron pacientes captadas en sus consultas y derivadas posteriormente al quedar gestantes. Por otro lado, se ha protocolizado la remisión desde los Centros de Atención a Drogodependientes de la isla quienes se encargan del seguimiento y control de pacientes con pautas de deshabituación. Finalmente, con el otro Hospital de la Isla, Hospital Nuestra Señora de la Candelaria, se acordó que derivasen las gestantes portadoras.

El número de notificaciones del Registro de casos de SIDA de Canarias y confirmados por el Registro Nacional de SIDA acumulado a 31 de diciembre de 2000 se eleva a 1474. En la provincia de Santa Cruz de Tenerife se han diagnosticado un total de 626 casos (42.5%), de los cuales han fallecido 258 (letalidad del 41.2%)<sup>17</sup>.

Los casos acumulados de mujeres en la Comunidad Canaria a 31 de diciembre de 2000 fueron de 226. El grupo de edad más frecuentemente afectado rondaba entre los 30 y 39 años que comprendía un 42.5%, seguido del grupo de edad entre los 20 y 29 años que representaba el 35.4%. El número total de mujeres diagnosticadas en Canarias hasta 1999 fue de 217, de los cuales corresponden 83 a la provincia de Santa Cruz de Tenerife.

En este estudio se ha valorado un total de 42 gestantes entre los años 1993 y 1999, las cuales de forma prospectiva cumplieron todos los protocolos establecidos. Por tanto, si tenemos en cuenta que el total de población susceptible de protocolizar durante este período de tiempo estudiado es de aproximadamente 64 mujeres en edad fértil, y aplicado un índice de fecundidad de 1.2 durante ese período (dato suministrado por el Instituto Canario de Estadística- ISTAC), es de

suponer que hemos conseguido captar la práctica totalidad de las gestaciones en mujeres seropositivas de nuestro medio. Gracias, sin duda, al adecuado funcionamiento del protocolo de captación.

De estas mujeres un 66.66% decidió continuar con la gestación y el resto optó por someterse a una interrupción voluntaria de embarazo acogiéndose a la ley vigente (Ley orgánica 9/1985 del 5 de julio- reforma del artículo 417 bis del código penal). Entre los años 1993 y 1995 se atendieron a 23 gestantes, de las cuales continuaron con la gestación un 61% y la interrumpieron el 39%. A partir de 1995 comienza la aplicación del protocolo ACTG y también se registra un descenso anual de casos en Canarias. Finalmente, entre 1996 y 1999 fueron captadas 19 pacientes, un 73.7% siguió con el embarazo y el 26.3% restante, optó por la finalización. En la interpretación de estas cifras globales hemos de tener presente el período de recogida y la variabilidad de las tasas de transmisión perinatal asociadas, que inicialmente rondaban el 25% y actualmente es inferior al 10%. La introducción del protocolo ACTG 076 marcó un punto de inflexión a la baja que justifica, desde nuestro punto de vista, el descenso de la opción IVE de un 39% a un 26%.

Un 66% de la población estudiada se encontraba entre la segunda y tercera década de la vida. Entre las mujeres que decidieron concluir el embarazo y las que continuaron con la gestación la edad media fue de 28 y 26 años, respectivamente. En cuanto a la paridad, para aquellas que continuaron con la gestación en el 50% de los casos era su primer hijo, mientras que las que se sometieron a una interrupción, el 43% ya tenían descendencia. Parece que factores como la edad o la paridad no jugaron un papel importante en la decisión materna de interrumpir el embarazo.

En los casos acumulados en Canarias, la forma de contagio más frecuente entre las mujeres fue a través del uso de droga vía parenteral el 46.9% y transmisión heterosexual el 38.5%<sup>17</sup>. La forma de contagio en las mujeres de nuestra población fue a través de drogas vía parenteral el 57.15 %, y transmisión heterosexual el 42.85%. La pareja en un 57.14% tenía serología positiva para el VIH. Interpretamos que estas cifras no difieren significativamente de los datos que corresponden al global de la comunidad de Canarias.

Entre las pacientes estudiadas la tasa de positividad frente a la hepatitis C (Ac contra la hepatitis C) era de 59.52%, un 9.52% presentaban HBcAc y un 33.33% HBSAc. En comparación con un estudio realizado en nuestro medio entre una población de gestantes consideradas de “no riesgo” se obtuvo una incidencia de 1.75% de mujeres portadoras de anticuerpos contra la hepatitis C y un 3.6% presentaban HbcAc<sup>462</sup>. Esta diferencia está relacionada con los antecedentes de la paciente.

## II.-EFECTO DE LA GESTACIÓN SOBRE EL CURSO DEL VIH

Los sujetos infectados por el VIH-1 están asintomáticos o con manifestaciones clínicas mínimas durante la mayor parte del curso natural de la enfermedad. Durante este período de latencia, que oscila una media de seis a ocho años, el virus se replica y ejerce su efecto deletéreo sobre el sistema inmune desde

la primoinfección. Si la activación crónica de la inmunidad es incapaz de erradicar el virus, de modo progresivo se agotará y abocará en un colapso inmunitario.

*Alger y colaboradores*<sup>37</sup> no evidenciaron ningún efecto de la gestación sobre la progresión del VIH entre aquellas embarazadas asintomáticas. En un trabajo realizado por *Deschamps y colaboradores*<sup>463</sup> controlaron a 140 mujeres seropositivas asintomáticas, de las que 44 quedaron gestantes durante el estudio y con una media de seguimiento de 44 meses, no encontraron diferencias significativas en ambos grupos en cuanto a tasa de progresión a SIDA o mortalidad.

Trabajos como el de *Saada y colaboradores*<sup>464</sup> y *Bessinger y colaboradores*<sup>105</sup> tampoco hallaron un efecto deletéreo de la gestación sobre la progresión de la enfermedad, una vez que ajustaron la edad de seroconversión y el porcentaje de CD4 al inicio de la gestación. También *Alliegro y colaboradores*<sup>104</sup> una vez que ajustaron edad, la cuenta de CD4 y la exposición a terapia, registraron que la gestación no parecía influir en la tasa de progresión. Incluso en aquellas gestantes con moderada inmunosupresión, el embarazo no aceleraba la progresión a SIDA<sup>103</sup>.

En nuestra población de gestantes también concluimos que la gestación con su estado inmunitario “propio” no ocasionaba un cambio en el estado inmunológico de la paciente seropositiva ni el inicio de la enfermedad. De forma detallada los dos casos más relevantes fueron: una paciente en la que se diagnosticó en el segundo trimestre una plaquetopenia que no requirió transfusión. Esta gestante seguía el protocolo ACTG 076 desde el primer trimestre, y aunque resulta raro se han descrito casos de trombopenia secundaria al tratamiento con azitimidina<sup>371</sup>. El segundo caso fue una reactivación de una hepatopatía crónica en el segundo trimestre en una gestante que seguía el protocolo ACTG 076 y con anticuerpos positivos contra la hepatitis C, posiblemente la conjunción de ambos factores fue el origen de la hipertransaminasemia transitoria. No obstante, algunos autores han observado que la inmunosupresión ocasionada por la infección por VIH determina mayor daño hepático<sup>465</sup>.

Hasta ahora se temía que las modificaciones inmunitarias que se producen durante el embarazo tuvieran una influencia desfavorable sobre la evolución de la enfermedad, en realidad esto no ha sido demostrado. La opinión predominante es que el embarazo tiene poca influencia en el curso de la enfermedad<sup>101,104,298,466</sup>. La eventual influencia de la gestación en pacientes de Estadío A1 y A2 se estudia sobre la base del efecto que se pudiera ocasionar en una serie de variables que se consideran como “marcadores de progresión” en la infección por el VIH. Se han descrito diferentes variables clínicas, inmunológicas o virales que se han relacionado, de forma positiva o negativa, con la progresión de la enfermedad. Su estudio nos ha permitido conocer y entender mejor la etiopatogenia de la infección y su progresión hacia el desarrollo de la enfermedad. Los factores de riesgo que están ampliamente aceptados incluyen fundamentalmente, una cuenta relativa o absoluta de las subpoblaciones linfocitarias, la carga materna viral, como una definición hecha para una variedad de parámetros que abarcan desde la presencia de un mayor nivel en el cultivo de células mononucleares en sangre periférica o un incremento viral medido por PCR para el VIH ARN, y la antigenemia p24. Su valor pronóstico se ha demostrado mediante diferentes estudios de cohortes.

*Kramer y colaboradores*<sup>467</sup> concluyen, tras un estudio realizado sobre la capacidad de determinar la evolución que tienen los marcadores inmunológicos (proporción de linfocitos CD4, neopterinina,  $\beta$ -2 microglobulina, interferón y anticuerpo anti-p24) y marcadores virológicos (antígeno p24) a lo largo de siete años tras la seroconversión, que éstos realmente facilitan la instauración precoz de tratamiento o la aplicación de medidas profilácticas.

Conceptualmente para que un marcador biológico sea considerado como tal, debería cumplir dos requisitos: que las variaciones del marcador tengan correlación con el riesgo de progresión clínica de la enfermedad y que cualquier efecto de un tratamiento pudiera ser medido por dicho marcador. De tal manera que, estos marcadores permitan instaurar precozmente medidas profilácticas o/y terapéuticas, así como evaluar la eficacia de las mismas sobre el sujeto.

Pero hay que tener en cuenta que posiblemente diversos factores influyen en el desarrollo de la enfermedad, modulando la expresión de estas variables. Finalmente, los diferentes estudios han concluido que su utilización de forma combinada tiene mayor valor predictivo, incrementando el que tiene de forma individual cada uno de ellos.

De forma particular pasamos a comentar los distintos tipos de marcadores que se han correlacionados con la progresión de la enfermedad y que hemos estudiado.

### IIA.-MARCADORES BIOLÓGICOS

#### IIA.1.-ANEMIA

Algunos autores han observado que la enfermedad puede progresar cuando aparece anemia<sup>470</sup>. En un estudio colaborativo internacional en el que se valoraron a 1744 pacientes seropositivos, se concluyó que bajos niveles de hemoglobina se asociaban con mayor riesgo de progresión a SIDA<sup>469</sup>.

En nuestra muestra se valoró la variación de las cifras de hematocrito y hemoglobina no encontrándose diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los trimestres ni en el postparto, sólo se puede destacar que entre el primer y segundo trimestre, así como entre el primer trimestre y postparto, se obtuvo una  $p < 0.1$  (n.s.). Este hallazgo se puede considerar como habitual en la población de gestantes y se justifica por el aumento de la demanda de hierro, la hemodilución fisiológica durante la gestación y la pérdida hemática en el parto.

#### IIA.2.-ALBÚMINA

Aunque la albúmina es un marcador del estado nutricional, algunos estudios han registrado que la supervivencia, independientemente del recuento o cifra de CD4, es menor en aquellos pacientes con valores de albúmina inferior a 3.5 g/dl<sup>470</sup>.

Nuestra población mantuvo cifras dentro de los límites de la normalidad a lo largo de los tres trimestres. Igual sucedió con el valor de las proteínas totales y sus diferentes fracciones.

### IIA.3.-LDH

Algunos autores destacan el valor de la LDH como factor pronóstico dentro de la progresión del VIH<sup>533</sup>.

En nuestra población mantiene cifras estables y dentro del rango fisiológico a lo largo de la gestación. Aunque muestra un aumento puntual en el periodo del periparto probablemente ocasionado por la destrucción muscular que se produce durante el mismo. Como es el caso de la creatinfosfoquinasa.

### IIA.4.-PERFÍL LIPÍDICO

Durante la gestación se producen una serie de cambios, fundamentalmente en el segundo trimestre, que afecta a los lípidos totales. Por esta razón no fueron tenidos en cuenta dentro de la valoración de los marcadores biológicos.

En cuanto a los parámetros bioquímicos estudiados como la fosfatasa alcalina, donde observamos, en nuestra muestra, un aumento progresivo a lo largo de la gestación que se regulariza a los dos meses postparto, habitualmente sucede que durante el curso de un embarazo fisiológico puede incrementar hasta tres veces su valor inicial, normalizándose a las seis semanas del parto, aunque puede persistir un ligero aumento durante el periodo de lactancia.

## IIB.-MARCADORES INMUNOLÓGICOS

### IIB.1.-LINFOCITOS CD4 Y CD8

La cifra de linfocitos en sangre periférica corresponde al 2% del total de linfocitos, el resto se localiza principalmente en los órganos linfoides. Representa, por excelencia, la célula diana de la infección por el VIH. La descripción de las distintas subpoblaciones y su asociación con las fases de “protección o progreso” ha permitido entender la infección y constituyen un marcador de progresión de primer orden.

Existe una correlación entre la cifra de CD4 y el momento de aparición de las manifestaciones clínicas. Numerosos trabajos han intentado determinar si la gestación influye en la progresión de la enfermedad por VIH. Trabajos como el de *Saada y colaboradores*<sup>464</sup>, una vez ajustados la edad de seroconversión y los niveles de CD4, no encontraron ningún efecto adverso de la gestación. Igualmente ensayos realizados por diferentes autores<sup>99,105,109,471</sup> no registraron cambios en los

niveles de CD4 y CD8, por lo que concluyeron que el embarazo no ejercía una acción dañina sobre el VIH.

Por otro lado, *Temmerman*<sup>108</sup> sí encontró que el porcentaje de CD4 era más bajo en el postparto que antenatal en las mujeres seropositivas frente a las seronegativas, pero estas diferencias no eran estadísticamente significativas. Así mismo, *Jhonstone y colaboradores*<sup>472</sup> determinaron una reducción tanto en los niveles absolutos como en el porcentaje de CD4 ocasionada por el embarazo. De igual manera, *Burns y colaboradores*<sup>98</sup> registraron una disminución fija en los niveles de CD4 durante la gestación y postparto, frente a las mujeres seronegativas en quienes estos valores se recuperaban a finales del tercer trimestre y postparto. *Minkoff y colaboradores*<sup>102</sup> sólo objetivaron diferencias cuando la cifra de CD4 era inferior a 300 células/mm<sup>3</sup>.

*Vimercati y colaboradores*<sup>473</sup> apuntan que factores como el abuso de drogas asociado al tabaquismo, la terapia antirretroviral, la edad gestacional, las complicaciones maternas y la transmisión perinatal, no guardaban relación con el número y porcentaje de linfocitos CD4 y CD8. No encontrando diferencias entre valores de las cuentas o niveles de los linfocitos, antes y después del parto.

Otro punto de vista fue la relación que *Mayaux y colaboradores*<sup>231</sup> encontraron, a menores niveles de CD4 y mayor porcentaje de CD8 existía mayor riesgo de transmisión vertical. En un *Estudio Colaborativo Europeo*<sup>217</sup> en el que se valoró el estado inmune materno, también encontraron una relación inversa entre los niveles de CD4 y el riesgo de prematuridad y transmisión perinatal.

*Connor y colaboradores*<sup>376</sup> estudiaron a mujeres seropositivas con sintomatología clínica donde un grupo recibió azitimidina durante la gestación frente a otro que sólo recibió placebo, ambos presentaron un incremento en las cuentas de los linfocitos CD4 a los 6 meses postparto, aunque éste era mayor en el grupo con terapia antirretroviral.

Las células CD8 también tienen su papel dentro de la inmunidad, inicialmente ayudarían en el control de la enfermedad y en alargar la supervivencia, ya que la no expansión podría dar lugar a una respuesta menos efectiva durante la infección.

*Burns y colaboradores*<sup>98</sup> no encontraron diferencias en la gestación en cuanto a los niveles CD8 entre el grupo de seropositivas frente a las seronegativas y *Miotti y colaboradores*<sup>109</sup> en los porcentajes de CD4 y CD8. Por el contrario, *Temmerman y colaboradores*<sup>108</sup> determinaron que las cuentas absolutas y los porcentajes de CD8 eran significativamente más altos en el postparto que durante el período prenatal (sin significancia estadística).

*Plaeger y colaboradores*<sup>474</sup> han registrado que durante el tercer trimestre los CD8 de mujeres que no transmiten perinatalmente el VIH tienen el doble de capacidad para suprimir *in vitro* el VIH, y que aquellas con una capacidad de supresión inferior al 50% tenía 3.4 veces mayor riesgo de transmitir a sus hijos el virus.

Se considera que el descenso de los linfocitos CD4 y del cociente CD4/CD8 son situaciones que se asocian a la progresión de la enfermedad. A su vez, la relación CD4/CD8 es significativamente superior entre mujeres que no transmiten de forma perinatal el VIH frente a las que sí lo hacen<sup>475</sup>.

Por ello, según el trabajo que tengamos en cuenta, la variación tanto de los linfocitos CD4, CD8, la actividad de las Natural Killer y la producción de inmunoglobulinas y citocinas, puede incrementar, disminuir o no variar<sup>94,97,98,99,100</sup>.

En nuestra población los niveles de CD4 mantienen cifras superiores a 400 células/mm<sup>3</sup>, con valores estables durante el primer y segundo trimestre para producirse un incremento importante durante el tercer trimestre y en el postparto.

Mientras que los niveles de CD8 sufren una pequeña inflexión hacia abajo del primer al segundo trimestre, con un incremento importante tanto el tercer trimestre como algo menos en el período de postparto inmediato.

Desde el punto de vista estadístico, los niveles absolutos de CD4 y CD8 muestran un aumento significativo entre el primer y el tercer trimestre ( $p < 0.025$ ), pero aunque los valores se mantienen elevados después del nacimiento, la diferencia con el postparto no llega a ser estadísticamente significativa ( $p < 0.1$ ).

Estos cambios que acontecen a lo largo del embarazo se han detectado entre mujeres sin antecedentes médicos de interés y con curso fisiológico de la gestación<sup>476</sup>.

Los resultados nos inclinan a pensar, que igualmente que otros autores así lo han demostrado, la gestación no influye negativamente en la progresión de la infección por VIH.

### IIB.2.-BETA-2 MICROGLOBULINA

La  $\beta$ -2 microglobulina es la cadena ligera del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I. Está presente en la superficie de células nucleadas, incluyendo linfocitos, macrófagos, etc. Su aumento, en ausencia de insuficiencia renal, es reflejo de la activación del sistema inmune y en especial, de los linfocitos.

Estudios de análisis prospectivos de marcadores sustitutivos en diversos grupos epidemiológicos de pacientes con infección VIH han demostrado que niveles séricos incrementados de  $\beta$ -2 microglobulina ( $>3\text{mg/l}$ ) se asocian a un mayor riesgo de progresión a SIDA<sup>86</sup>.

En los enfermos de SIDA la elevación de esta glicoproteína está inversamente relacionada con la cifra de CD4<sup>86,467</sup>. *Fuchs y colaboradores*<sup>477</sup> incluso recomiendan su determinación junto con la medida de la neopterina, como marcador de progresión si la cuantificación de los CD4 no está disponible. Sin embargo existen diferencias con relación a los distintos grupos estudiados, entre homosexuales el poder predictivo es superior que entre los adictos a drogas vía parenteral.

Incluso algunos autores como *Fahey y colaboradores* y *Lifson y colaboradores*<sup>478,479</sup> demuestran que el incremento de los niveles séricos de  $\beta$ -2 microglobulina tiene la capacidad de predecir la evolución a SIDA de forma más precoz que el descenso de linfocitos CD4.

Igualmente en el grupo de mujeres gestantes que siguieron el control en nuestra unidad, el valor de la  $\beta$ -2 microglobulina presentó valores estables a lo largo de la gestación con un pequeño incremento durante el tercer trimestre y postparto inmediato, estas variaciones no presentaron un carácter estadísticamente significativo, lo que apoya la idea de que no se produjo progresión y que la

gestación puede que no ejerza un efecto deletéreo sobre el transcurso de la enfermedad. Los valores durante el período de estudio fueron inferiores a 3 microgramos/ml (RR de 1, según *Moss y colaboradores*).

### IIB.3.-INMUNOGLOBULINAS

Los niveles de las inmunoglobulinas como marcador inmunológico de la gestante seropositiva fue reconocido en un *Estudio Colaborativo Europeo*<sup>471</sup>, en él determinaron que los niveles de inmunoglobulina G disminuían gradualmente a lo largo de la gestación, incrementando a los 6 meses del postparto. Y tanto la IgA como la IgM permanecían estables.

En cuanto a su relación con la posibilidad de transmisión perinatal, *Markham y colaboradores*<sup>480</sup> encontraron que entre las madres transmisoras la IgG, anticuerpo contra la Gp160, se detectaba en mayor cantidad que en las no transmisoras. Mientras que la concentración de IgA permanecía igual tanto en transmisoras como en las no transmisoras.

Por otro lado, *Re y colaboradores*<sup>481</sup> en una muestra de 31 gestantes seropositivas registraron que aquellas que no eran no transmisoras tenían durante toda la gestación valores estables de IgA de bajo peso molecular contra el VIH-1, mientras que aquellas que tenían niños afectados mostraban sólo un pico durante la misma. La inmunoglobulina A es un marcador que refleja el grado de activación de las células B. Así el aumento de la concentración de la inmunoglobulina A sérica tiene un importante valor pronóstico de progresión independiente del número de linfocitos CD4<sup>482</sup>. Igualmente, en un trabajo realizado a nivel internacional con 1744 pacientes infectados con el VIH, se demostró que niveles altos de IgA y  $\beta$ -2 microglobulina se relacionaba con mayor posibilidad de progresión del VIH<sup>469</sup>.

En nuestra población la IgG mantuvo cifras estables durante el curso de la gestación para producir un aumento importante en el postparto tardío, tal y como fueron los datos recogidos por el *Estudio Colaborativo Europeo*. La IgM presenta un incremento en el segundo trimestre que, aunque posteriormente desciende ligeramente, mantiene los valores elevados durante el tercer trimestre y postparto. Por el contrario, la IgA y la IgE presentan una pequeña inflexión hacia abajo en el segundo trimestre, que se recupera y se mantiene constante a lo largo del tercer trimestre y puerperio.

Esta diversidad entre los valores absolutos de las inmunoglobulinas A, G, E y M que se suceden durante el desarrollo de la gestación tampoco muestran carácter estadísticamente significativo. Lo que nos lleva a concluir que éstas permanecen estables en el curso del embarazo.

## IIC.-MARCADORES SEROLÓGICOS

### IIC.1.-ANTÍGENO P24

El antígeno p24 es una proteína nuclear del VIH cuya detección, por lo general, implica producción excesiva y replicación viral activa.

Hasta ahora la detección de antigenemia en suero o plasma constituía un recurso diagnóstico de gran interés, especialmente cuando el paciente se encontraba en el período de ventana, que precede a la seroconversión, y como marcador de progresión.

La antigenemia p24 sigue un curso bifásico, se eleva en la infección aguda y cuando aparece el complejo relacionado con el SIDA, y desciende en el momento que los niveles de CD4 son superiores a  $500/\text{mm}^3$ . Valora por tanto la evolución en pacientes asintomáticos, su aparición es marcador de desarrollo de la enfermedad. Permite monitorizar aquellos pacientes que reciben terapia e identificar sujetos muy infectivos. Además se ha propugnado como forma de diagnóstico en la transmisión vertical. Su asociación con otros marcadores de progresión como la  $\beta$ -2 microglobulina y los linfocitos CD4 mejora su capacidad de predicción. *Rubio Caballero y colaboradores*<sup>483</sup> en un estudio desarrollado durante 24 meses con 251 pacientes, evaluaron el antígeno p24 deduciendo que este se comportaba como un marcador muy útil para determinar la progresión a SIDA o muerte.

En un *Trabajo Colaborativo Europeo*<sup>219</sup>, basado en 721 niños nacidos de 701 mujeres seropositivas, encontraron que la antigenemia p24 así como los niveles CD4, eran marcadores de riesgo de transmisión perinatal. Igualmente, en otro trabajo realizado en el Zaire por *St Louis y colaboradores*<sup>248</sup>, hallaron una asociación entre antigenemia p24 y niveles de CD8 con un riesgo superior de transmisión. Aunque *Rich y colaboradores*<sup>484</sup> también detectaron un mayor riesgo de transmisión cuando existían niveles detectables de antígeno p24, su presencia no la precedía con seguridad.

En nuestra población el valor del antígeno p24 fue indetectable en 23 casos, mientras que en las 5 gestantes restantes mantuvieron cifras de escasa repercusión y sin que se produjese un incremento relevante en el transcurso del embarazo, parto y puerperio.

## IID.-MARCADORES VIROLÓGICOS

### IID.1.-CARGA VIRAL

La carga viral, es actualmente el mejor predictor de progresión de la enfermedad<sup>441,442</sup>. La determinación cuantitativa del ARN vírico por mililitro de plasma o el número de partículas víricas circulantes, indirectamente reflejan el número de CD4 infectados. Existe en buena correlación entre la carga viral y otros marcadores biológicos como la  $\beta$ -2 microglobulina. También permite la monitorización de la respuesta terapéutica, así como tiene valor pronóstico en los

pacientes con infección por VIH. Los datos sobre correlación entre ARN vírico y riesgo de transmisión perinatal son muy conflictivos. Muchos trabajos han encontrado transmisión en la totalidad del rango de los niveles de ARN<sup>440,443</sup>. Aunque *Thea y colaboradores*<sup>444</sup> demostraron una mayor tasa de transmisión a mayor carga viral, una vez ajustadas las cifras de CD4. *Dickover y colaboradores*<sup>118</sup> y *O'Shea y colaboradores*<sup>442</sup> también hallaron una relación directa entre los niveles de ARN y el riesgo de transmisión vertical del VIH. Además demostraron una asociación entre prematuridad y mayor nivel de carga viral. Por otro lado, *Sperling y colaboradores*<sup>218</sup> detectaron que el efecto protector de la azitimidina se produce en cualquier nivel de ARN-VIH-1.

*Burns y colaboradores y Mofenson y colaboradores*<sup>485,486</sup> afirman que el control de la carga viral es fundamental para prevenir la transmisión vertical.

En otro trabajo de *Burns y colaboradores*<sup>106</sup> encontraron que el embarazo podría tener un pequeño efecto sobre la carga viral en la mayoría de las mujeres seropositivas.

En el Hospital Universitario de Canarias la determinación de la carga viral se comienza a realizar a partir de 1997, se utiliza el RT-PCR (*Amplicor HIV*). En nuestra muestra sólo se recogió de manera seriada la medida de la carga viral a cuatro gestantes. Por ello no se pudo considerar esta variable dentro del estudio de transmisión perinatal, ni considerar su evolución en el embarazo.

### III.-TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

En febrero de 1994, el Instituto Nacional de la Salud anunció el efecto beneficioso del ensayo Protocolo ACTG 076<sup>376</sup>. A partir de este momento numerosos trabajos demostraron que la terapia antirretroviral disminuía de forma significativa el riesgo de transmisión vertical<sup>50,128,216,376,420,433,438</sup>. Incluso entre pacientes sintomáticas y sin tratamiento previo con antirretrovirales, la utilización de la azitimidina durante la gestación e intraparto, conseguía reducir hasta unas dos terceras partes la tasa de transmisión<sup>376</sup>.

*Ramos Amador y colaboradores*<sup>487</sup> obtenían una tasa de infección entre los recién nacidos de aproximadamente 2.9%, entre 38 gestantes seropositivas asintomáticas que recibieron azitimidina durante unos 5 meses. *Carneiro y colaboradores*<sup>488</sup> señalan que independientemente del estado inmune materno o la ruta del parto, la tasa de transmisión entre aquellas mujeres que reciben monoterapia con azitimidina era alrededor del 4%. En un trabajo realizado en Carolina del Norte encontraron una reducción de la tasa de infección del recién nacido del 21% al 3%, entre aquellas mujeres que recibieron azitimidina<sup>439</sup>. Este descenso se observó independientemente del número de linfocitos CD4, el tiempo de rotura de membranas, la edad gestacional, el antecedente de consumo de drogas o la forma de culminación del embarazo. También *Connor y colaboradores*<sup>376</sup> alcanzaron una disminución de 2/3 de la tasa de transmisión en aquellas gestantes a las que se administró de forma prenatal y periparto azitimidina, así como durante 6 semanas al recién nacido.

Para *Dickover y colaboradores*<sup>118</sup> el mayor efecto protector lo ejerce la azitimidina, fundamentalmente al reducir los niveles de ARN-VIH, sobre todo en

la proximidad al parto. Realmente se desconoce el mecanismo de acción por el cual la azitomicina actúa en la transmisión madre-hijo. Parece que el paso del fármaco a través de la placenta y su metabolización a trifosfato activo podría suministrar protección contra la difusión<sup>423</sup>.

Aunque inicialmente así se planteó, *Sperling y colaboradores*<sup>218</sup> y *Cao y colaboradores*<sup>440</sup> confirmaron que existe un amplio rango de niveles de ARN en el que la transmisión podría ocurrir. Aún más, un análisis de multivarianza determinó que un descenso de los niveles del virus durante la gestación no estaba directamente correlacionado con las bajas tasas de transmisión. Y que el efecto de azitomicina sobre la disminución de la carga viral materna y el incremento de los CD4 era responsable sólo de una pequeña proporción relativa de esta efectividad en la reducción de la transmisión perinatal. Por ello resulta importante la administración de terapia independientemente de los niveles de ARN o la cuenta de los CD4<sup>218,445</sup>. Es raro que exista resistencia a la azitomicina en los niños nacidos de madres seropositivas tratadas, hecho que podría estar relacionado con una menor eficacia del efecto reductor de la tasa de transmisión. *Fiscus y colaboradores*<sup>439</sup> no encontraron ningún caso de resistencia fenotípica a la azitomicina en una serie de niños cuyas madres fueron sometidas al Protocolo ACTG 076.

Finalmente, existen numerosos trabajos que encuentran una relación directa entre la transmisión vertical y el estado inmune materno (porcentaje de linfocitos CD4, la carga viral, etc.).

Desde su aceptación clínica adaptamos la terapia antirretroviral con AZT según el protocolo ACTG 076 que fue cumplimentado en su totalidad, lo que supone de nuestra población aproximadamente un 43% las gestantes, aunque dos pacientes recibieron terapia combinada en la que se incluía la azitomicina. En el seguimiento analítico no se encontró ningún caso de anemia grave que requiriera transfusión, sólo 2 casos de anemia moderada (una de ellas seguía el protocolo ACTG 076) que sólo necesitaron tratamiento y control ambulatorio. En general, la terapia antirretroviral fue bien tolerada por la gestante sin aparecer efectos secundarios (gastrointestinales o hematológicas) o toxicidad que obligara a la reducción de la dosis o la interrupción del tratamiento.

El tratamiento de la infección por VIH ha experimentado importantes variaciones a lo largo de esta última década, introduciendo fármacos cada vez más potentes. Aunque está demostrado que la azitomicina ha disminuido el porcentaje de afectación o transmisión vertical, el tratamiento para la mujer sería subóptimo. La monoterapia no es la mejor estrategia para controlar la infección por VIH debido a la rápida aparición de resistencias. Está claro el efecto de la terapia combinada sobre la mujer y, posiblemente de forma indirecta, sobre el riesgo de transmisión resultado de una mayor reducción de los niveles de ARN en sangre<sup>490</sup>. Actualmente se recomienda continuar con el mismo régimen si queda gestante, pero con mayor control por los efectos tóxicos todavía desconocidos. *Casas y colaboradores*<sup>490</sup> proponen el uso de la combinación de azitomicina y didanosina en las últimas semanas de gestación en los casos de alto riesgo o si existiese resistencia materna a la azitomicina, sin encontrar efecto tóxico añadido.

En un estudio multicéntrico y prospectivo se siguieron a 39 gestantes que recibieron terapia combinada con dos análogos nucleósidos de la retrotranscriptasa

inversa, fueron controladas durante todo el embarazo y al recién nacido al menos tres meses. Tanto la madre como el recién nacido toleraron bien la terapia, sin encontrar efectos secundarios o toxicidad. La función hepática y los parámetros hematológicos no se alteraron de forma patológica<sup>491</sup>. El devenir de nuevos agentes antirretrovirales para el tratamiento de pacientes VIH y el deseo de optimizar el estado de salud, ha iniciado el uso de terapias donde se combinan análogos de nucleósidos de la transcriptasa inversa e inhibidores de la proteasa. Hasta ahora la azitomidina era el tratamiento estandarizado durante la gestación, sin embargo el mayor efecto antiviral conseguido por estos nuevos regímenes parece más efectivo a la hora de prevenir la transmisión perinatal del VIH. *Tapp*<sup>492</sup> explica que los datos recientes muestran que la terapia combinada ofrece un efecto antiviral más pronunciado y más efectivo que la monoterapia con azitomidina, sobre la transmisión perinatal.

A pesar de que en nuestro colectivo sólo recibieron terapia combinada dos pacientes, estas pertenecían al último período de estudio y desde entonces esta ha sido la pauta de elección. Tampoco entre ellas se produjeron efectos secundarios o signos de toxicidad.

### III.A. -SEGUIMIENTO EN EL RECIÉN NACIDO

Datos del ACTG 076 y 288 no recogen efectos adversos en niños expuestos, tras 18 meses del nacimiento<sup>434</sup>. Otros estudios han seguido estos niños que intraútero su madre recibió terapia antirretroviral durante los 6 primeros años de vida sin detectar una mayor incidencia de neoplasias, alteraciones neurológicas o del desarrollo pondoestatural<sup>461</sup>. Incluso en aquellos casos en los que se administró durante el primer trimestre, no se diagnosticaron una mayor tasa de malformaciones en los recién nacidos<sup>493</sup>. *Villegas Castrejón y colaboradores*<sup>494</sup> tampoco hallaron mayor proporción de malformaciones congénitas tanto en aquellos recién nacidos que durante la vida intrauterina la madre recibió azitomidina o a los que se les administró el combinado azitomidina y didanosina. *Connor y colaboradores*<sup>376</sup> no encontraron diferencias tanto en el grupo de mujeres seropositivas sintomáticas que recibieron placebo como las que llevaron terapia con azitomidina. *Watson y colaboradores*<sup>495</sup> han informado como efecto colateral entre aquellos recién nacidos cuya madre recibió terapia antirretroviral el diagnóstico de una anemia severa.

Nosotros no registramos al nacimiento anomalías estructurales congénitas ni presencia de malformaciones entre los recién nacidos expuestos al tratamiento a lo largo de la gestación ni entre los 4 fetos estudiados procedentes de las interrupciones voluntarias que recibían terapia antirretroviral. Tampoco tuvimos ningún caso de acidosis láctica en el recién nacido como se ha descrito en la literatura.

Antes de iniciar el tratamiento en el recién nacido, se realizó un control analítico general para descartar la presencia de anemia, posteriormente se monitorizó tanto el hemograma como la bioquímica durante el período de protocolo establecido, siguiendo a continuación los controles rutinarios propios de la edad pediátrica. En nuestro grupo no hubo necesidad de hacer transfusiones

sanguíneas por la presencia de anemia secundaria al tratamiento en el recién nacido.

De igual manera, en los datos obtenidos del ensayo ACTG 076 seguidos los niños entre 18 y 36 meses no encontraron diferencias desde el punto de vista de efecto carcinogénico, frente a aquellos que recibieron placebo<sup>461</sup>. Por nuestra parte, entre los niños que intraútero su madre recibió terapia antirretroviral y los que siguieron el protocolo en el postparto, durante las 6 semanas, no se encontraron diferencias en cuanto a desarrollo pondoestatural en relación con el resto de la población infantil según las curvas actuales de crecimiento, ni mayor proporción de enfermedades infantiles o inferior desarrollo del coeficiente intelectual. Tampoco se han registrado patologías que pudiesen estar relacionadas a la terapia antirretroviral.

#### IV.-EFECTO DEL VIH SOBRE EL CURSO DE LA GESTACION

A la hora de evaluar el posible efecto del VIH sobre el embarazo debe considerarse que pueden de fondo existir una serie de factores de riesgo que podrían ser la causa directa de un resultado desfavorable. Generalmente se trata de mujeres que están en malas condiciones sanitarias como la desnutrición, la presencia de otras enfermedades infecciosas o de transmisión sexual, toxicomanías, así como la procedencia de un bajo estrato social, o que ejercen la prostitución.

Se ha registrado hasta un 70% de complicaciones entre mujeres VIH, las más comunes son el aborto, el parto pretérmino o los procesos infecciosos. Aunque muchos autores confirman estos hallazgos, en general este efecto debería referirse a aquellas gestantes gravemente inmunocomprometidas.

#### IVA.-PATOLOGIA ANALÍTICA

*Minkoff y colaboradores*<sup>113</sup> encontraron un mayor riesgo de padecer enfermedades de transmisión sexual entre mujeres seropositivas durante la gestación, frente a un grupo control. Algunos autores creen que la infección por VIH puede promover la existencia de una flora vaginal anormal, y esta a su vez incrementar la susceptibilidad de la transmisión sexual del VIH<sup>35</sup>. En un metaanálisis publicado en la base de datos del Cochrane, realizado por *Wilkinson y Rutherford*<sup>496</sup> concluyeron que los resultados en cuanto a la relación reducción de transmisión del VIH y tratamiento de enfermedades de transmisión sexual procedente de ensayos randomizados, es limitado. Aunque la mejora en el tratamiento de las ETS ha mostrado una reducción en la incidencia del VIH, la prevalencia de este último se mantiene. Ello ha llevado consigo un cambio en la actitud frente a las enfermedades de transmisión sexual evitando conductas de riesgo, y por otro lado, ha mejorado el tipo de terapia antirretroviral que al paciente se le administra.

En un estudio descriptivo entre pacientes seropositivos y seronegativos, no se encontró que existiese una mayor prevalencia de marcadores positivos para la hepatitis B y C entre los VIH-1, ni que tampoco hubiese una asociación

estadísticamente significativa entre la hepatitis B y C<sup>497</sup>. *Hershow y colaboradores*<sup>498</sup> hallaron que la infección por el virus de la hepatitis C se correlacionaba con un incremento de la transmisión vertical. Por otro lado, la posibilidad de transmisión de la hepatitis C no estaba afectada por el tipo de parto o el estado serológico de la madre (seropositividad para el VIH)<sup>499</sup>.

En nuestra población el 21.42% presentaban serología positiva para VDRL y el 100% negativa para FTA, un 57.14% tenían anticuerpos contra la hepatitis C, un 39.28 % anticuerpos de superficie contra la hepatitis B y hasta un 7.14% presentaban un estado crónico para la hepatitis B. Ningún caso de gonorrea, cinco de tricomonas (11.9%), dos de clamidias (4.76%) y dos gestantes con condilomas acuminados vulvovaginales (4.76%). Estos resultados son similares a los obtenidos de la evaluación de 53 gestantes toxicómanas procedentes de nuestro medio<sup>534</sup>. Por tanto, los resultados parecen guardar relación con que la vía de transmisión del VIH fue a través de la adicción a drogas vía parenteral, en casi la mitad de las gestantes.

### IVB.-PATOLOGÍA MÉDICA

Es importante evaluar inicialmente el estadio clínico e inmunológico de la enfermedad materna, nuestra muestra contaba con pacientes que partían de un estadio inicial, se trata pues de un colectivo libre de enfermedad.

*Minkoff y colaboradores*<sup>113</sup> presentan una mayor tasa de complicaciones médicas en gestantes VIH, aunque éstas guardan correlación con el estado inmunológico materno. En otro trabajo llevado a cabo por *Minkoff y colaboradores*<sup>102</sup> hallaron que aquellas gestantes seropositivas con cuentas de CD4 inferiores a 300 células/mm<sup>3</sup> desarrollaban infecciones oportunistas durante el embarazo, lo que suponía un peligro para el bienestar materno y la salud del feto. También *Landers y colaboradores*<sup>500</sup> encuentran una mayor predisposición entre las embarazadas con infección VIH-1 para desarrollar procesos infecciosos.

Por el contrario, *Figuroa-Damian*<sup>501</sup> determinó que las gestantes con cuentas de CD4 superiores a 200/mm<sup>3</sup> no mostraban mayor morbilidad tanto durante la gestación como en el postparto.

En la población de gestantes controladas por nosotros se requirió ingreso por patología médica en 7 ocasiones, ninguna de ellas revistió gravedad, ni influyó negativamente en el curso de la gestación. En general, se trataba de patología asociada habitualmente con el embarazo. Tampoco, dentro de la patología que sólo recibió control ambulatorio, se diagnosticaron procesos infecciosos u otros relacionados con el desarrollo de la enfermedad del SIDA.

No podemos pues, relacionar en nuestro colectivo una mayor incidencia de patología en la gestación y puerperio, ni atribuírselo al estado portador VIH.

### IVC.-PATOLOGÍA OBSTÉTRICA

En la actualidad muchos trabajos han intentado relacionar el VIH y el desarrollo de peores resultados obstétricos, aunque posteriormente otros han

demostrado que por el contrario, no es la infección la responsable de los mismos, sino la existencia de factores extrínsecos como el consumo de drogas, alcohol, etc., el origen de estos hallazgos.

*Makuwa y colaboradores*<sup>112</sup> encontraron un mayor porcentaje, con carácter significativo, de abortos entre gestantes VIH frente a un grupo de mujeres sanas. *Gray y colaboradores*<sup>295</sup> afirman que la tasa de embarazo está reducida entre las mujeres VIH y, además, presentan una mayor proporción de abortos. En nuestra serie no nos hemos encontrado ningún caso de aborto espontáneo ni amenaza de aborto tanto en el grupo que continuó con el embarazo como aquellas que se sometieron a una interrupción de forma voluntaria.

*Temmerman y colaboradores*<sup>116</sup> concluyeron que la infección materna por VIH-1 aunque se asociaba con prematuridad no lo estaba con retraso de crecimiento intrauterino. También *Landers y colaboradores*<sup>500</sup> afirman que el VIH predispone a que la madre tenga una variedad de resultados adversos como la prematuridad, el bajo peso al nacimiento, endometritis postparto, etc. En esta misma línea, *Turner y colaboradores*<sup>111</sup> sí encuentran un mayor porcentaje de bajo peso al nacimiento, parto pretérmino y retraso de crecimiento intrauterino.

Entre 1983 a 1996, *Brocklehurst y French*<sup>502</sup> revisaron 31 gestantes determinando que el VIH materno daba lugar a la aparición de resultados adversos perinatales: anomalías fetales, muerte neonatal, mortalidad infantil, prematuridad, retraso de crecimiento, recién nacidos de bajo peso y abortos espontáneos.

Sin embargo, *Minkoff y colaboradores*<sup>113</sup> afirman que cuando se controló el consumo de drogas, tabaco y la edad materna, no hallaba correlación entre el estado del VIH, el peso, la edad gestacional, la circunferencia craneal y el apgar del recién nacido.

En nuestro Hospital la incidencia de partos pretérminos en los últimos años es de aproximadamente un 6-7%. Del estudio obtuvimos un 10.71% de mujeres que requirieron ingreso por amenaza de parto y finalizaron su embarazo con menos de 37 semanas el 14.28%, pero con edad gestacional inferior a 34 semanas solamente una paciente (3.57%) que culminó la gestación a las 31 semanas. Opinamos que verdaderamente la infección, por sí sola, no parece favorecer la precipitación de forma temprana del inicio del trabajo de parto en nuestro colectivo. Todos ellos mantuvieron la premisa de integridad de membranas hasta el momento del parto.

Finalmente, múltiples estudios han registrado que la edad gestacional y el peso del recién nacido al nacimiento, están inversamente correlacionados con el riesgo de transmisión del VIH<sup>142,503</sup>.

En nuestra serie, fueron diagnosticados de retraso de crecimiento intrauterino (CIR) durante la gestación, mediante el control ecográfico, tres fetos cuyo desarrollo se hallaba por debajo del percentil 25 (10.71%). La población en general en nuestro medio tiene una incidencia alrededor del 10%. Por tanto, no podemos decir que el factor VIH positivo influya en la incidencia de CIR.

Además, hemos recogido 5 recién nacidos con peso inferior a 2500 gramos del total de la muestra (17.85%). Solamente dos (7.14%) cumplían la premisa: menor de 2500 gramos y edad gestacional inferior a las 37 semanas. Estos

resultados son comparables a los de la población general y reafirman el hecho de que en nuestra muestra no existe una mayor tasa de distrofia fetal.

Dentro del concepto de recién nacido deprimido, es decir, con apgar inferior a 7 tanto en el primer minuto como a los cinco minutos, sólo está recogido un caso con valor de 6 al primer minuto. A los 5 minutos todos los valores del apgar fueron superiores a 7. Tampoco se han registrado otros resultados adversos como muerte neonatal o perinatal, anormalidades fetales, etc.

Creemos que estos buenos resultados perinatales inmediatos que hemos obtenido en nuestro colectivo de gestantes portadoras VIH deben ser puestos directamente en relación con el estricto cumplimiento de los protocolos de asistencia gestacional por parte de las madres.

## **V.-TRANSMISIÓN PERINATAL**

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana se ha incrementado en la última década entre las mujeres, con lo que la tasa de transmisión materno-fetal podría suponer un problema. El momento del diagnóstico es fundamental a la hora de reducir la transmisión perinatal de la infección. Un buen *screening* prenatal es la clave para desarrollar todos los controles y medios que tenemos para preservar la salud del recién nacido.

La prevención de la transmisión debe comenzar con un buen control prenatal, haciendo hincapié en la detección de factores cuya presencia representen un riesgo para la misma: abuso de drogas, enfermedades de transmisión sexual, etc. Debe continuar a nivel intraparto cumpliendo una serie de requisitos que reduzcan la carga viral tanto en sangre como en las secreciones genitales, así como la posibilidad de contacto directo con el feto. Y finalmente, en el postparto con la inhibición de la lactancia materna.

Para ello, numerosos factores han sido estudiados con el fin de determinar su papel potencial en la prevención y/o transmisión materno-fetal: el estado inmunológico de la madre<sup>117,142</sup>, la carga viral<sup>485</sup>, la prematuridad fetal<sup>503</sup>, el bajo peso<sup>142</sup>, la presencia de anticuerpos contra la envoltura Gp120, el consumo de drogas ilícitas<sup>142,247</sup>, la frecuencia de actividad sexual durante la gestación<sup>485</sup>, el tiempo de bolsa rota<sup>142,247</sup>, la vía del parto, la aparición de complicaciones obstétricas, etc<sup>237</sup>.

## **VA.-MEDIDAS PRENATALES**

Se ha realizado un seguimiento de la gestación de las pacientes VIH, con el mismo protocolo utilizado para las gestantes de alto riesgo seronegativas, incluyendo además la monitorización de marcadores biológicos, inmunológicos y serológicos. Todo ello con el fin de determinar precozmente la necesidad de cambios en la terapia antirretroviral. Aparte, de un control estricto de las enzimas hepáticas entre aquellas pacientes que recibían el protocolo ACTG 076. *Tranchat y colaboradores*<sup>475</sup> estudiaron diferentes parámetros de la respuesta humoral en el suero de 39 gestantes seropositivas, concluyendo que aquellas que tenían un valor

aumentado en la proporción de CD4/CD8 e incremento de los anticuerpos p24 con alta reactividad contra el epítotope de Gp41, se asociaban a menor tasa de transmisión perinatal. Por el contrario, *Calarota y Libonatti*<sup>504</sup> no encontraron correlación estadísticamente significativa entre la presencia de anticuerpos contra la Gp41 y la transmisión vertical. También *Boyer y colaboradores*<sup>128</sup>, en un estudio de cohortes con 63 gestantes VIH-1 observaron una correlación entre la antigenemia p24 al término y el riesgo de transmisión perinatal, aunque ésta última tenía un carácter multifactorial.

*Re y colaboradores*<sup>481</sup> encuentran que las gestantes que no transmiten la infección a sus hijos mantienen durante todo el embarazo valores estables de inmunoglobulina A de bajo peso molecular, mientras que aquellas que sí son transmisoras sólo aparece un pico de IgA en el curso de la gestación. En cuanto a la carga viral, *Mofenson y colaboradores*<sup>486</sup> encontraron que ésta era el mejor predictor del riesgo de transmisión de VIH-1 y que la terapia antirretroviral conseguía minimizar la transmisión perinatal y mejorar la salud de la madre.

La determinación de la presencia de enfermedades de transmisión sexual y las infecciones cervicovaginales fueron diagnosticadas y tratadas de forma precoz, ya que representan un factor de riesgo en la transmisión<sup>38</sup>. *Greco y colaboradores*<sup>505</sup> afirmaron que existe un mayor riesgo de transmisión perinatal cuando se asocian comportamientos de riesgo como el abuso de drogas o la seropositividad a otras enfermedades de transmisión sexual.

En nuestra serie fue controlado el consumo de drogas mediante protocolos de deshabitación para lo cual se estableció una estrecha colaboración con los centros de desintoxicación (CAD). *Landesman y colaboradores*<sup>142</sup> y *Burns y colaboradores*<sup>485</sup> encontraron que aquellas gestantes consumidoras de drogas vía parenteral tenía una mayor tasa de transmisión perinatal. Esto podría ser secundario a fenómenos de disrupción placentaria que pondría en contacto la sangre materna con la fetal, aspecto que no pudimos constatar en nuestra serie.

Por otro lado, la forma de medir si se producía contacto entre la sangre materna y el feto fue a través del test de Kleinhäuer, el resultado para todos los casos de nuestra muestra fue negativo.

Además, se completó con un seguimiento ecográfico para permitir detectar la presencia de malformaciones, retraso de crecimiento, o signos de insuficiencia placentaria como el oligoamnios o el envejecimiento precoz de la placenta.

Rutina inicial fue la determinación de la serología de la pareja, para que en los casos de negatividad se pudiese aconsejar sobre el empleo métodos de prevención. En cuanto a la actividad sexual durante la gestación y su relación con el incremento de la transmisión perinatal es desconocido, puede que la exposición a diferentes cepas del virus se asocie a un incremento en la replicación viral, lo cual daría mayor virulencia. *Greco y colaboradores*<sup>505</sup> incluyen como factor de riesgo para la transmisión vertical la seropositividad de la pareja. También como ya se ha dicho, los microtraumatismos podrían ocasionar pequeñas roturas de la membrana placentaria que se haría permeable al acceso del virus al feto.

En lo que respecta a la prescripción de los fármacos antirretrovirales, estudios recientes afirman que aquellos pacientes que requieren tratamiento deben beneficiarse del uso de la terapia combinada. La monoterapia puede crear mutaciones virales y resistencias contra las cadenas virales que a su vez reducen el

efecto posterior de la terapia combinada. Muchas de estas combinaciones llevan AZT y tienen una mayor acción sobre la supresión prolongada de la replicación viral y el nivel de carga viral, con una mejora o aumento en la cifra o porcentaje de linfocitos CD4. Por otro lado, aunque presentan un menor porcentaje de resistencias, el efecto de estos fármacos durante la gestación es desconocido. Ha de ponerse en una balanza el potencial de beneficio con el potencial de riesgo y los efectos desconocidos de toxicidad y teratogenicidad. *Marczynska y Szczepanska-Putz*<sup>506</sup> registran una tasa de transmisión de cero cuando se aplicó el protocolo ACTG 076 a la madre y su hijo.

*Silverman y colaboradores*<sup>491</sup> en un estudio multicéntrico llevado a cabo en Estados Unidos y Canadá, combinaron dos nucleósidos (AZT y 3TC) que fueron bien tolerados por la madre y el recién nacido, sin efectos secundarios o toxicidad a corto plazo y con una tasa de transmisión del 2.5%.

También ha sido valorado el efecto de los inhibidores de la proteasa en 91 niños nacidos de 89 gestantes seropositivas sin encontrar mayor tasa de prematuridad, ni otros efectos adversos tanto en la madre como en su hijo. Y, lo que resulta más importante, no se produjo ningún caso de transmisión vertical<sup>507</sup>.

Finalmente, se ha observado que el efecto de la terapia en la mujer con niveles bajos de CD4 y enfermedad avanzada parece ser cualitativamente similar a aquellas con mayores recuentos de CD4 y asintomáticas.

La disminución de la carga viral en sangre gracias a la terapia antirretroviral puede asociarse a una reducción en las secreciones vaginales, tal y como registraron *Hart y colaboradores*<sup>508</sup>. Por el contrario, *Rasheed y colaboradores*<sup>253</sup> no encuentran relación entre la replicación viral en la sangre con las secreciones genitales.

En nuestro grupo de gestantes que recibieron terapia antirretroviral, monoterapia con azitimidina o terapia combinada, no se manifestaron efectos adversos por parte de la madre, y posteriormente tampoco en el recién nacido, que obligara a la interrupción del tratamiento. Beneficiándose de la reducción de marcadores como la  $\beta$ -2 microglobulina o el antígeno p24, así como la carga viral, en los casos que pudo ser determinada, y el mantenimiento de la cifra de los linfocitos CD4, durante la gestación y, lo que resulta más importante, en el momento del parto.

### VB.-MEDIDAS INTRAPARTO

La mayoría de los hallazgos muestran que la transmisión ocurre fundamentalmente en el momento del parto<sup>509</sup>, por ello nuestros esfuerzos se centraron durante el desarrollo del mismo. Las mejores estimaciones aseguran que el 50 al 80 % de la transmisión ocurre alrededor del mismo. En un estudio prospectivo realizado a 495 niños nacidos entre 1988 y 1991, concluyeron los autores que la transmisión materno fetal parecía ocurrir al final de la gestación o en el momento del parto<sup>228</sup>. En otro trabajo realizado por *Bertolli y colaboradores*<sup>229</sup> estimaron que la transmisión ocurría fundamentalmente durante el parto, en el momento del nacimiento, y en el postparto inmediato mediante la lactancia materna. La presencia o aislamiento del VIH de las secreciones vaginales y

cervicales explicaría que la transmisión al recién nacido pudiera producirse sobre todo en el momento del parto por la exposición del feto a las secreciones o sangre materna que contienen el virus. La presencia de enfermedades de transmisión sexual<sup>257</sup> y las infecciones cervicovaginales han de ser diagnosticadas y tratadas, no sólo porque representan un riesgo en la transmisión sino porque además intervienen en la ruptura prematura de membranas y el desencadenamiento de un parto prematuro. *Taha y Gray*<sup>510</sup> realizaron el primer ensayo clínico en el cual se asociaba las infecciones del tracto genital con el riesgo de transmisión materno fetal, demostrando que los antibióticos suponían un complemento en la reducción obtenida por los antirretrovirales, prescritos a la mujer próximamente al parto.

Por tanto, la infección bacteriana ascendente de las membranas durante el período de parto podría facilitar la transmisión vertical. Numerosos trabajos reflejan una relación entre la transmisión vertical y la presencia de corioamnionitis. La corioamnionitis histológica es un proceso que está inversamente relacionado a la edad gestacional y directamente con la duración de ruptura de membranas y la transmisión vertical. *Kuhn y colaboradores*<sup>503</sup> concluyeron que los recién nacidos pretérminos son más vulnerables a la adquisición del VIH en el momento del parto, especialmente si se producía una rotura prolongada de membranas. *Goldenberg y colaboradores*<sup>511</sup> postulan una asociación entre parto pretérmino y ruptura prolongada de membranas con transmisión perinatal, sobre todo cuando en ellos se asocia una corioamnionitis bacteriana crónica o aguda con migración de leucocitos dentro de la cavidad amniótica que desencadena todo el proceso.

Por todo ello, parece conveniente que en las gestantes con infección por VIH deban prevenirse y tratarse las infecciones del tracto genital bajo. Así, consideramos recomendable como hemos llevado a cabo en nuestra población, que inicialmente se tomen muestras de las secreciones genitales a todas las pacientes asintomáticas para la determinación de infecciones, y su tratamiento posterior en caso de resultado positivo.

La importancia del tiempo de exposición del feto al tracto genital bajo fue demostrada por el incremento de transmisión en el primer recién nacido de una gestación gemelar, *Duliege y colaboradores*<sup>230</sup> detectaron una duplicación en el riesgo de transmisión. *Henin y colaboradores*<sup>512</sup>, del Instituto Pasteur, encontraron que independientemente del estado inmunológico, la recepción de terapia antirretroviral o la historia de enfermedades de transmisión sexual, las gestantes tenían una mayor excreción del virus de inmunodeficiencia adquirida en las secreciones genitales que las que no lo estaban. Algunos trabajos han determinado la presencia de VIH en el aspirado de los recién nacidos de mujeres seropositivas, este hallazgo podría suponer un riesgo en la infección perinatal<sup>209,252</sup>. Esta exposición mucosa estaba relacionada directamente con la carga viral materna, y se reducía por la acción de la terapia antirretroviral.

En nuestra serie, para evitar el riesgo de corioamnionitis y el contacto del feto con las secreciones genitales maternas, se controló el número de horas de bolsa rota hasta el momento del parto para que no fuera superior a 6 horas, y preferentemente, no mayor de 4 horas. No se realizó amniorraxis de forma que la monitorización fetal fue externa. Además se controló la dinámica para regular el tiempo de parto, y en los pródromos de parto que presentaban rotura de bolsa de forma prematura, se condujo inmediatamente con oxitocina. En nuestro grupo de

mujeres el 80 % de la población tuvo un tiempo de bolsa rota inferior a las 6 horas, lo que interpretamos como un logro decisivo para la prevención de la eventual transmisión perinatal.

Existen otros procedimientos obstétricos que pueden incrementar el contacto entre el VIH materno y el niño. Así, *Boyer y colaboradores*<sup>128</sup> sugirieron que el incremento de exposición a sangre materna podría aumentar la tasa de transmisión, incluyendo como factores de riesgo a la episiotomía, los desgarros de segundo grado, el uso de electrodo de calota fetal y la hemorragia placentaria. También *Mandelbrot y colaboradores*<sup>256</sup> encontraron que la amniocentesis y la hemorragia durante el trabajo de parto incrementaban el riesgo si estas técnicas se realizaban de forma sistemática. En general, los procedimientos cruentos como la episiotomía, el uso de electrodo en calota fetal y la medición de pH en sangre de calota, pueden aumentar la posibilidad de contacto del niño con la sangre materna u otros líquidos infectados, por tanto, el riesgo de transmisión. Otro estudio también halló una mayor tasa de transmisión entre aquellas gestantes en las que se utilizó la valoración de pH de calota fetal y/o monitorización interna de la frecuencia cardíaca fetal aconsejando que fuesen eliminadas de la práctica habitual entre estas gestantes<sup>513</sup>.

En nuestro caso, y para evitar estos eventos, no sólo se contraindicó la realización de pruebas de oxitocina que pudiesen ocasionar pequeños desprendimientos placentarios, también se controló la perfusión de oxitocina durante el parto para evitar polisistolias. No se realizó toma de pH de calota fetal, y se evitó la realización de episiotomía, siendo en su defecto pequeña y tardía. Pudimos completar estas normas en el 100% de los casos, hecho que debe ser tenido en cuenta a la hora de justificar la tasa de transmisión nula perinatal.

Contrariamente a estos hallazgos, *Landesman y colaboradores*<sup>142</sup> no encontraron asociación estadísticamente significativa con aquellas variables en las que se producía contaminación del canal del parto con sangre como placenta previa, abruptio, desgarros perineales, monitorización interna, etc. Tampoco *Viscarello y colaboradores*<sup>514</sup> confirmaron esta asociación.

Como conclusión, intervenciones tales como la amniorrexia artificial o la monitorización interna durante el parto sólo debe reservarse para situaciones en las que los beneficios del procedimiento superan a los riesgos.

En cuanto a la analgesia durante el parto, se contraindicó la analgesia epidural ya que esta favorece los expulsivos prolongados, mayor tiempo de contacto mucosa fetal con las secreciones vaginales, y la instrumentación del parto, mayor riesgo de contacto de sangre materna con sangre fetal.

*Alger y colaboradores*<sup>37</sup> encuentran mayor posibilidad entre las gestantes VIH de tener temperaturas más altas durante el parto, no requiriendo en ningún caso tratamiento antibiótico durante el período de dilatación ni en el postparto. En nuestro grupo de gestantes también se controló la temperatura durante el parto no detectándose ningún caso de hipertermia.

Los esfuerzos para asegurar una cantidad innumerable de medios para interrumpir la transmisión periparto han dirigido ensayos clínicos a examinar la eficacia de la disminución de virus vivos en el tracto genital bajo. Los lavados vaginales es una técnica de bajo coste y fácil aplicación que pudiera ser utilizada

tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo, para desinfectar la vagina antes y durante el parto.

Hemos encontrado pocos trabajos sobre la realización de lavados vaginales o irrigaciones de forma periódica durante el trabajo de parto. La finalidad de los mismos está dirigida a la eliminación de la presencia del virus en el canal vaginal, que al ponerse en contacto con las mucosas o tras la deglución, podría ocasionar la infección del feto. *Biggar y colaboradores*<sup>515</sup> realizaron un ensayo donde a 696 mujeres se les aplicaba clorhexidina para limpieza del tracto genital bajo cada 4 horas durante el trabajo de parto, frente a un grupo control de 712 mujeres en quienes no se utilizaba. Encontraron que aquellas gestantes seropositivas con rotura prematura de membranas que utilizaban lavados con clorhexidina tenían menor tasa de transmisión. *Milosevic*<sup>516</sup> ofrece como otra posibilidad de intervención en la reducción de la transmisión perinatal, el uso de sustancias que puedan inactivar los virus que se encuentran en las secreciones vaginales.

Nosotros también añadimos esta técnica de forma complementaria para reducir la posible presencia del virus en el canal de parto, y dado los beneficios obtenidos, creemos que pudiera ser una estrategia de utilidad en los países en vías de desarrollo, con una alta incidencia acumulada y bajos recursos. Es sencilla su forma de aplicación y es de fácil adquisición.

En cuanto a la terapia antirretroviral intraparto, no está claro si la azitimidina intraparto disminuye el riesgo ocasionado en la rotura prematura de membranas. Al menos un estudio ha sugerido que la administración de AZT perinatal disminuye la transmisión independientemente del efecto de la duración de rotura de membranas. La presencia de virus en las secreciones vaginales puede ser reducida mediante la aplicación de terapia antirretroviral<sup>209</sup>. *Dabis y colaboradores*<sup>517</sup> encontraron que la utilización de azitimidina únicamente durante el período del parto conlleva una reducción del 38% de la transmisión vertical.

En un trabajo realizado entre 1995 y 1997, en niños nacidos de madres seropositivas, demostró que la azitimidina era capaz de reducir la tasa de transmisión incluso cuando se aplicaba inicialmente en el momento del parto o los dos días posterior al nacimiento<sup>459</sup>.

El 50% de nuestra cohorte recibió el protocolo ACTG 076 durante la gestación y el parto. La prescripción de la azitimidina posiblemente ayudó a la reducción de la afectación neonatal, consiguiendo no sólo preservar la salud del recién nacido, sino disminuir los costes que supondrían los cuidados médicos de un paciente nuevo.

Según *Landers y colaboradores*<sup>500</sup> la infección por VIH puede influir en que la gestante desarrolle más frecuentemente endometritis postparto, así como otras infecciones que aumente la morbilidad. También *Temmerman y colaboradores*<sup>116</sup> encontraron que las gestantes seropositivas tenían una mayor predisposición a desarrollar endometritis postparto, y que ésta estaba correlacionada inversamente con el porcentaje de CD4 en el momento del parto.

Finalmente, *Watts y colaboradores*<sup>518</sup> registraron una mayor tasa de endometritis e infección de la herida tras una cesárea que frente a un parto vaginal, aunque estas podían disminuir si se asociaba el uso de antibioterapia profiláctica.

En nuestra serie no fue detectado ningún caso de endometritis, mastitis ni otro tipo de infección en el puerperio inmediato o tardío, ni siquiera entre aquellas

pacientes en las que la gestación culminó mediante un parto abdominal. Tampoco fue hallada mayor proporción de hemorragias postparto con respecto a la población general.

### VC.-MEDIDAS POSTPARTO

Fueron *Ziegler y colaboradores*<sup>214</sup> quienes demostraron la transmisión a través de la lactancia materna en niños, cuya madre sana recibió una transfusión sanguínea en el postparto causante de la seroconversión.

*Toniolo y colaboradores*<sup>213</sup> concluyeron que la replicación del VIH en las células alveolares y ductales eran responsables de su presencia en la leche.

*De Martino y colaboradores*<sup>262</sup> también registraron que la lactancia materna era una ruta de transmisión del VIH. *Olayinka y Obi*<sup>519</sup> determinaron que la tasa de transmisión a través de la lactancia era del 11.1%.

Al igual que la presencia de úlceras a nivel genital se asocia a un incremento de infección neonatal, la aparición de mastitis y abscesos se asoció con un mayor riesgo de transmisión en el postparto tardío, más de dos meses<sup>520</sup>.

La investigación futura será encontrar una profilaxis para prevenir la transmisión postnatal a través de la leche mientras se mantiene una adecuada nutrición. Así, *Guay y colaboradores*<sup>521</sup> compararon la nevirapina frente a la azitimidina administrada durante las primeras 16 semanas de vida, incluso manteniendo lactancia materna. La nevirapina era un fármaco más barato, y conseguía reducir hasta un 50% la transmisión en la población que mantenía la lactancia materna, por lo que resultaba muy interesante su uso en países en vías de desarrollo. En un metaanálisis realizado por *Brocklehurst y Volmink*<sup>522</sup> procedente de la base de datos de la Cochrane, están de acuerdo con la efectividad de la nevirapina en la reducción de la transmisión vertical así como en la facilidad para su adquisición para aquellos países en vías de desarrollo.

Para evitar la transmisión postnatal a través de la leche materna, se inhibió la lactancia en todos los casos de nuestra muestra. Somos conscientes que en algunos países dada la pobreza que existe en la población, esta medida quizás no resulte más afortunada que la de mantener la lactancia y aplicar la tasa de transmisión que le corresponde.

### VD.-CESÁREA ELECTIVA

Fueron *Duliege y colaboradores*<sup>230</sup> quienes detectaron un mayor riesgo de transmisión en el primer gemelo que nacía vía vaginal frente al segundo que lo hacía mediante cesárea. Este hallazgo dirigió la atención sobre la potencial importancia de la exposición del feto a las secreciones de las partes más bajas del tracto genital en el momento del parto, así este efecto es biológicamente posible ya que elimina el contacto del feto con el canal del parto. Una tendencia reciente es convertir a la cesárea como la forma de culminación de este tipo de embarazos sobre todo cuando se asocia a la terapia antirretroviral, todavía no se ha encontrado una tasa igual a cero. Así en países desarrollados, algunos autores concluyen que el

uso de profilaxis con AZT o terapia combinada con cierta precaución, la realización de una cesárea electiva y la lactancia artificial podrían reducir hasta el 1% la tasa de transmisión materno-fetal<sup>523,524</sup>. Incluso *Maguire y colaboradores*<sup>212</sup> afirmaron que el efecto protector de la cesárea resultaba aún en ausencia de profilaxis con azitimidina, aunque cuando se recibía la terapia, la cesárea tenía un efecto protector añadido. Igualmente, en un metaanálisis realizado por el *Grupo Internacional Perinatal de VIH*<sup>259</sup> sugirió que la reducción de transmisión madre-hijo secundaria a la realización de una cesárea era independiente del efecto del tratamiento con azitimidina. Incluso *Kind y colaboradores*<sup>258</sup> consiguen una ausencia de transmisión en aquellas mujeres a las que se combinó terapia con AZT y cesárea electiva.

Pero, la paciente queda expuesta a numerosos riesgos y complicaciones en comparación con el parto vaginal, donde los efectos adversos son prácticamente nulos<sup>458,525</sup>. En este sentido, *Maiques-Montesinos y colaboradores*<sup>526</sup> encontraron una mayor morbilidad postcesárea entre las gestantes seropositivas, teniendo en cuenta el estado inmunológico materno, frente al grupo control. Por el contrario, en un *Trabajo Colaborativo Europeo*<sup>456</sup> realizado en 1999 detectaron que la cesárea electiva ofrecía mayor protección sin aumento del número de complicaciones para la madre.

*Mrus y colaboradores*<sup>210</sup> proponen desde el punto de vista coste-efectividad, la realización de una cesárea electiva cuando los niveles de ARN sean detectables, aunque son conscientes que la misma supone un aumento de la mortalidad materna del 2.4 por 100.000. Este beneficio no parece tan claro cuando se reduce la carga viral en el momento del parto<sup>527</sup>. También *Mitchla y Sharland*<sup>523</sup> se cuestionan si existe beneficio en la cesárea cuando la carga viral materna es indetectable. En la línea de este pensamiento, *McGowan y Shah*<sup>527</sup> incluyen como indicación de cesárea, aparte de las habituales, cuando la supresión viral no se ha conseguido en el momento del parto.

Por el contrario, en un trabajo llevado a cabo con 267 niños nacidos de madres VIH-1 no encontraron asociación significativa entre la vía del parto y la transmisión vertical<sup>438</sup>. Además, otros autores hallaron que la cesárea realizada una vez iniciado el trabajo de parto, no ofrecía protección frente a la carga viral presente en la secreción genital<sup>225</sup>. Finalmente, *Mandelbrot y colaboradores*<sup>256</sup> no consiguieron reducir la tasa de infección perinatal tras la realización de una cesárea de forma electiva. En una muestra de 1632 mujeres registraron una tasa de infección en el neonato similar para partos vaginales como para cesáreas, es probable que otros factores, en particular la duración de ruptura de membranas, jueguen un papel crítico en la transmisión.

Como hemos visto, resultan conflictivos los datos que tienen relación con la importancia de la ruta del parto en la transmisión. Creemos que en la gran mayoría de los casos, la cesárea debería estar reservada para las indicaciones obstétricas habituales.

En nuestra población aproximadamente el 80% de las gestantes culminó la gestación por vía vaginal, requiriendo en un solo caso de ayuda instrumental (fórceps). Estos resultados se consiguieron manteniendo las normas previamente establecidas de aislamiento fetal y reducción de la carga viral (terapia antirretroviral e irrigaciones vaginales), que permitieron obtener una tasa de

infección nula. Las indicaciones recogidas para la realización de una cesárea fueron puramente de carácter obstétrico y las especialmente protocolizadas para este colectivo en lo referente a reducción de tiempo de dilatación activa y pródromos. Tampoco fue detectada ninguna complicación en el puerperio inmediato ni tardío.

Claramente el riesgo de transmisión materno-fetal es multifactorial: los niveles de CD4, carga viral, el tiempo de bolsa rota, el tipo de parto, la presencia de complicaciones obstétricas, la lactancia natural, etc.

En nuestra población en la que hubo una tasa de transmisión nula, parece que las estrategias desarrolladas para el control de los diferentes factores de riesgo (control de la amniorrhexis, monitorización externa del parto, evitar el uso de la episiotomía o control de los desgarros, acortamiento del tiempo de bolsa rota, pródromos y dilatación activa, lavados vaginales para reducir la carga viral, terapia antirretroviral, inhibición de la lactancia, etc.) jugaron un papel fundamental en la consecución de estos resultados.

## VI.-ANATOMÍA PATOLÓGICA

La placenta tiene una actividad hormonal e inmunitaria que potencialmente promueve y evita la transmisión madre-hijo.

En general, el estudio microscópico de la placenta no permite distinguir aquellas que pertenecen a mujeres seropositivas de las que no lo son. Sin embargo, la tendencia de numerosos estudios demuestra un aumento de peso en las placentas de gestantes seropositivas, así como un mayor grado de hipermadurez e hiper celularidad y exceso de depósito de fibrina y calcificaciones en las mismas<sup>123,132</sup>, aunque estos hallazgos no son específicos.

La infección y subsiguiente replicación viral dentro de las células de Hofbauer, pudiera facilitar el paso progresivo del virus y convertirse en la vía de transmisión, ya que la capa endotelial de los capilares fetales es una barrera selectiva menos permeable para las moléculas grandes. *Goldstein y colaboradores*<sup>124</sup> y *Schwartz y Nahmias*<sup>123</sup> encontraron que las células de Hofbauer poseían receptores para el CD4, por lo que eran candidatas para la infección por el virus.

Por otro lado, tanto el sincitiotrofoblasto como la célula de Hofbauer tienen receptores para la IgG<sup>124</sup>, el paso de los anticuerpos a partir del segundo trimestre podría jugar un papel en la protección del feto frente a la infección por el VIH.

Inicialmente se describió en la placenta la proliferación de las células de Hofbauer en las vellosidades coriales. La hiperplasia de las células X, las células de Hofbauer<sup>133,134</sup>, el incremento de la fibrina perivellositaria y de la vascularización (corioangiosis)<sup>127</sup> explicaron el aumento de peso de la placenta<sup>123,135</sup>. *Jauniaux y colaboradores*<sup>132</sup> también encontraron que existía una diferencia de peso placentario a favor de las gestantes seropositivas que fue achacado al aspecto congestivo y a una mayor madurez del parénquima.

Por otro lado, el uso del AZT puede, al reducir la replicación viral, disminuir la respuesta hiperplásica de las células de Hofbauer<sup>133,494</sup> y disminuir la diferencia de peso placentario. Esta hiperplasia no es más que una respuesta de defensa local.

La valoración macroscópica de las placentas estudiadas en nuestra serie no mostró, de forma significativa, un aumento de peso con respecto a lo que le correspondería con el peso del feto o la edad gestacional, tanto entre aquellas embarazadas que recibieron terapia antirretroviral como las que no, con respecto a la población general.

En un estudio llevado a cabo en Estados Unidos por la Escuela de Medicina de Atlanta no encontraron diferencias significativas entre las placentas de mujeres transmisoras de aquellas que no lo eran. Lo que sí apareció fue una asociación significativa entre la aparición de signos de inflamación placentaria e infección por VIH<sup>139</sup>.

La corioamnionitis histológica es un proceso que está directamente relacionado con la duración de ruptura de membranas y transmisión vertical<sup>511</sup> y con la prematuridad<sup>135</sup>. *Goldenberg y colaboradores*<sup>511</sup> afirmaron que la corioamnionitis favorece la migración del VIH dentro de la cavidad amniótica. En esta misma línea, *St Louis y colaboradores*<sup>248</sup> demostraron que la tasa de transmisión perinatal era superior cuando existía inflamación de las membranas, y que ésta era independiente del estado inmunológico materno (antigenemia p24, cuentas de CD4 y CD8). Pero, a diferencia de estos, *Schawrtz y colaboradores*<sup>139</sup> aunque encontraron una frecuencia más alta de lesiones inflamatorias en la membrana placentaria, éstas no se asociaban a un incremento de la transmisión vertical.

Aunque la incidencia de villitis parece ser superior, su presencia no sugiere una asociación con la transmisión. La villitis o respuesta inflamatoria de la vellosidad coriónica podría, teóricamente, favorecer la entrada del virus. *Chandwani y colaboradores*<sup>528</sup> evaluaron las placentas a término de pacientes seropositivas frente a otras de mujeres control mediante estudio histológico rutinario, observando que las placentas de las gestantes VIH no mostraban villitis de forma significativa, pero sí existía una incidencia incrementada de corioamnionitis.

Nosotros hemos registrado en el análisis de la muestra de placentas, presencia de corionitis hasta en un 25% en las gestantes a término y de villitis en un 7.14%, cifras comparables a lo que se recoge en la literatura en embarazos de grupos control seronegativos. Sí que aparecen signos de hipermadurez como las calcificaciones placentarias, aunque estos sólo son datos inespecíficos que también aparecen en placentas de seronegativas.

Tampoco *Backé y colaboradores*<sup>529</sup> tras el estudio microscópico de 48 placentas expuestas al VIH encontraron una mayor incidencia de inmadurez de la vellosidad terminal frente al grupo control, sobre todo en aquellas gestantes que consumían heroína. Sí que presentaban una vasculopatía de la alantoides, rara en placentas a término, que se correlacionaba con la disminución de los niveles de CD4.

En un trabajo en el cual se controló el embarazo a 315 gestantes seropositivas y 311 controles, no se encontraron anomalías histopatológicas placentarias atribuidas al VIH<sup>116</sup>.

Hasta ahora la observación o estudio anatomopatológico de la placenta no permite determinar si se producirá la transmisión del virus o no<sup>529</sup>.

## VII.-HIBRIDACIÓN *IN SITU*

En un estudio llevado a cabo por *Chandwani y colaboradores*<sup>528</sup> identificaron, mediante hibridación *in situ*, antígenos y ácidos nucleicos del VIH en el trofoblasto del 10% de placentas que presentaban corioamnionitis.

Por otro lado, *Katz y colaboradores*<sup>530</sup> valoraron mediante hibridación *in situ* las placentas de recién nacidos afectados, mientras que el estudio histológico no mostró diferencias significativas ni el cultivo de las mismas demostró la presencia del virus, si se encontró la presencia de ácido nucleico en el sincitiotrofoblasto en tres de las 10 placentas estudiadas. Por lo que se valoró esta técnica como una herramienta útil en el diagnóstico de la probable transmisión perinatal. Por el contrario, *Ehrnst y colaboradores*<sup>509</sup> valoraron mediante hibridación *in situ* y PCR 12 fetos procedentes de abortos de mujeres seropositivas, no consiguiendo detectar la presencia del virus con ninguna de las dos técnicas en 10 de los mismos, este hecho indica que el mayor porcentaje de transmisión ocurre próximo al parto. Tampoco *Peuchmaur y colaboradores*<sup>531</sup> demostraron mediante inmunohistoquímica e hibridación *in situ* la presencia de secuencias del virus en las placentas de 75 mujeres seropositivas.

*Backé y colaboradores*<sup>529</sup> en un ensayo aplicando hibridación *in situ* a 48 placentas, sólo en 4 encontraron ARN-VIH-1, de ellas sólo un niño estaba afecto. La presencia de antígeno p24 tampoco se correlacionaba con transmisión del VIH al recién nacido. Este grupo concluye que la placenta puede suprimir la replicación viral, el CRF (factor inhibidor del crecimiento) presente en la placenta puede inhibir la producción de interleukina 1 y 6, citokinas que intervienen en la replicación viral.

Tampoco *Mattern y colaboradores*<sup>532</sup> encontraron relación entre la presencia de antígeno p24 en la placenta y la infección del neonato.

Con estos hallazgos hacen pensar que la diseminación del VIH a través de la placenta es inconsistente y que la mayoría de las transmisiones ocurren próximas al parto.

En nuestro estudio mediante hibridación *in situ*, de las 20 muestras de placentas pertenecientes a embarazos a término o en las 8 muestras obtenidas mediante la interrupción voluntaria del embarazo y las 6 muestras fetales, no conseguimos detectar en ningún caso la presencia de material genético del virus. A posteriori podríamos concluir que quizás la transmisión de la infección por VIH de madre a hijo se produzca fundamentalmente en el momento del parto, ya que resulta más fácil o se dan las condiciones apropiadas para que exista contacto entre la sangre o secreciones genitales maternas, con presencia del virus, y la mucosa fetal. Por otro lado, la ausencia de transmisión perinatal que hemos registrado en nuestra serie debe tenerse en cuenta a la hora de argumentar que la transmisión perinatal ocurre más en el periodo periparto que por colonización transplacentaria.

## VIII.-SEGUIMIENTO PEDIÁTRICO

Las primeras descripciones de casos de SIDA en niños se realizaron en 1982. Los casos acumulados en Canarias a 31 de diciembre de 2000, clasificados

como hijos de madres de riesgo, fueron 18 (11 varones y 7 mujeres)<sup>15</sup>. En nuestra serie ninguno de los 28 niños nacidos de las mujeres seguidas en nuestro centro se afectó del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Los recién nacidos del grupo de gestantes seropositivas tuvieron buenos resultados perinatales. En su gran mayoría conservaron un peso adecuado para su edad gestacional en el momento del parto. La frecuencia cardíaca fetal se describió como normal durante el desarrollo del parto en todos los casos, el apgar fue casi siempre superior a 7 al primer minuto y siempre superior a 7 a los cinco minutos.

Los niños fueron monitorizados durante los 18 primeros meses. Se controló el crecimiento pondoestatural, no mostrando diferencias con respecto a la población general, tanto aquellos niños que recibieron profilaxis intraútero o/y durante las seis primeras semanas de vida como el resto del grupo. Tampoco se mostró mayor número de infecciones, a parte de las propias de la edad, ocasionadas por un peor estado inmunológico.

Tras 18 meses del nacimiento, datos del ACTG 076 y 288 no registran efectos adversos en niños expuestos<sup>434</sup>. Incluso en aquellos casos en los que se administró durante el primer trimestre, no se diagnosticaron una mayor tasa de malformaciones en los recién nacidos<sup>493</sup>. *Villegas Castrejón y colaboradores*<sup>494</sup> tampoco hallaron mayor proporción de malformaciones congénitas tanto en aquellos recién nacidos que durante la vida intrauterina la madre recibió azitomicina o a los que se les administró el combinado azitomicina y didanosina. *Connor y colaboradores*<sup>376</sup> no encontraron diferencias tanto en el grupo de mujeres seropositivas sintomáticas que recibieron placebo como las que llevaron terapia con azitomicina.

En cuanto al desarrollo neurológico, su adaptación en la escolarización parece transcurrir sin aparentes problemas.

*Hanson y colaboradores*<sup>435</sup> han seguido estos niños que intraútero recibieron terapia antirretroviral durante los 3 primeros años de vida sin detectar una mayor incidencia de neoplasias.

Igualmente, en los datos obtenidos del ensayo ACTG 076 seguidos hasta aproximadamente los 6 años de edad no encontraron diferencias inmunológicas, neurológicas y en los parámetros de crecimiento, frente a aquellos niños que recibieron placebo<sup>461</sup>.

El seguimiento a largo plazo en nuestra serie sólo ha destacado el éxito por Leucemia en una niña de 5 años de edad, hasta ese momento sana y libre de infección. En este caso, tanto la madre como la propia recién nacida no recibieron zidovudina ni otra terapia antirretroviral.

## ***CONCLUSIONES***

---

## *Conclusiones*

---

- 1.-No encontramos patología específica reseñable en el curso clínico de la gestación, parto y postparto inmediato en nuestra población de gestantes portadoras del VIH.
- 2.-No apreciamos influencia adversa del embarazo y postparto inmediato sobre los marcadores de progresión del VIH serológicos ( $\beta$ -2 microglobulina, Ag p24), ni inmunológicos (poblaciones linfocitarias CD4 y CD8, inmunoglobulinas).
- 3.-La administración de zidovudina, según ensayo ACTG 076, no ha conllevado efecto deletéreo sobre el desarrollo fetal y neonatal ni sobre el curso clínico de la gestación, parto y postparto. Excepción hecha de una mayor tasa de anemia materna que ha respondido favorablemente a la feroterapia oral.
- 4.-Aunque sin significación estadística, apreciamos mejores valores en los marcadores inmunológicos (poblaciones linfocitarias, inmunoglobulinas) en el grupo de gestantes bajo tratamiento antirretroviral según protocolo ACTG 076.
- 5.-Se ha encontrado un alto porcentaje de hallazgos anatomopatológicos en el tejido placentario estudiado, tanto en las gestaciones interrumpidas como en los embarazos a término, si bien estos hallazgos han sido de tipo inespecíficos.
- 6.-No hemos detectado presencia del VIH con las técnicas de hibridación *in situ* aplicadas sobre tejidos fetales en las interrupciones voluntarias del embarazo.
- 7.-No hemos detectado presencia del VIH con las técnicas de hibridación *in situ* aplicadas sobre el tejido placentario tanto de las interrupciones voluntarias del embarazo como de las placentas a término.
- 8.-La tasa de transmisión del VIH en la población neonatal, 28 pacientes seguidos hasta los 18 meses de vida, ha sido del 0%.
- 9.-Los hallazgos encontrados refuerzan la hipótesis de una transmisión perinatal del VIH fundamentalmente durante el trabajo de parto por contaminación hemática frente a la vía transplacentaria.
- 10.-Según nuestros resultados los métodos preventivos bioquímicos (irrigaciones vaginales de clorhexidina) podrían tener un papel relevante en la prevención de la transmisión perinatal del VIH en gestantes no sometidas a protocolos de tratamiento antirretroviral.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

---

- <sup>1</sup>Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med.* 1981; 305 (24): 1425-31.
- <sup>2</sup>Center for Disease Control and Prevention. Update acquired immune deficiency syndrome (AIDS). United States. *MMWR.* 1982; 31: 507-8 y 513-4.
- <sup>3</sup>Schubach J, Popovic M, Gilden RV, et al. Serological analysis of a subgroup of human T lymphotropic retroviruses (HTLV III) associated with AIDS. *Science.* 1984; 224 (4648): 503-5.
- <sup>4</sup>Barré-Sinussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T Lymphotropic Retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science.* 1983; 220 (4599): 868-71.
- <sup>5</sup>Sarnagadharan MG, De Vico AL, Bruch L, et al. HTLV-III: the etiologic agent of AIDS. *Princess Takamatsu Symp.* 1984; 15: 301-8.
- <sup>6</sup>Gellmann EP, Popovic M, Blayney D, et al. Proviral DNA of a retrovirus, human T cell leukemia virus, in two patients with AIDS. *Science.* 1983; 220 (4599): 862-5.
- <sup>7</sup>Ratner L, Haseltine W, Patarca R, et al. Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III. *Nature.* 1985; 313 (6000): 277-84.
- <sup>8</sup>Cotton P. Cofactor question divides codiscoverers of HIV. *JAMA.* 1990; 264 (24): 3111-2.
- <sup>9</sup>Desrosiers R. A finger on the missing link. *Nature.* 1990; 345: 288-9.
- <sup>10</sup>Noireau F. HIV transmission from monkey to man. *Lancet.* 1987; 1: 1498-9.
- <sup>11</sup>Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* 1995; 373 (6510): 117-22.
- <sup>12</sup>Ellerbrock TV, Lieb S, Harrington PE, et al. Heterosexually transmitted human immunodeficiency virus infection among pregnant women in a rural Florida community. *N Engl J Med.* 1992; 327 (24): 1704-9.
- <sup>13</sup>Houweling H, Hamers FF, Termorshuizen F, et al. A birth cohort analysis of AIDS in Europe: High incidence among young persons at risk. *AIDS.* 1998; 12 (1): 85-93.
- <sup>14</sup>Schoenbaum EE, Hartel D, Selwyn PA, et al. Risk factors for human immunodeficiency virus infection in intravenous drug users. *N Engl J Med.* 1989; 321 (13): 874-9.
- <sup>15</sup>Boletín Epidemiológico sobre SIDA-VIH. Dirección General de Salud Pública. Servicio de Epidemiología. Programa de Prevención del SIDA. 2000; diciembre, nº 22.
- <sup>16</sup>Berry DE. The emerging epidemiology of rural AIDS. *J Rural Health.* 1993; 9 (4): 293-304.
- <sup>17</sup>European Centre for the Epidemiological Monitoring of AIDS: HIV/AIDS Surveillance in Europe: 1994-1996. Quart by Report European Centre from the Epidemiological Monitoring of AIDS: 1996.
- <sup>18</sup>Carré N, Meyer L, Boufassa F, et al. High risk of HIV disease progression after infection through a sexual partner with AIDS. *AIDS.* 1996; 10 (1): 77-80.
- <sup>19</sup>Seage GR III, Mayer KH, Horsburgh CR Jr. Risk of human immunodeficiency virus infection from unprotected receptive anal intercourse increases with decline in immunologic status of infected partners. *Am J Epidemiol.* 1993; 137 (8): 899-908.
- <sup>20</sup>Anderson DJ, O'Brien TR, Politch JA, et al. Effects of disease stage and zidovudine therapy on the detection of human immunodeficiency virus type 1 in semen. *JAMA.* 1992; 267 (20): 2769-74.
- <sup>21</sup>Meyer L, Carre N. Cofactors in the course of HIV infection. *Presse Med.* 1996; 25 (8): 379-80, 382-4.
- <sup>22</sup>Pedraza MA, Del Romero J, Roldan F, et al. Analyses of virological and immunological parameters involved in HIV heterosexual transmission. 4<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Washington, DC, USA, 22-26 January 1997. Abstract: 157.

- <sup>23</sup>Fowke KR, Nagelkerke NJ, Kimani J, et al. Resistance to HIV-1 infection among persistently seronegative prostitutes in Nairobi, Kenya. *Lancet*. 1996; 348 (9038): 1347-51.
- <sup>24</sup>Luscher MA, Choy G, Njagi E, et al. Naturally occurring IgG anti-HLA alloantibody does not correlate with HIV type 1 resistance in Nairobi prostitutes. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1998; 14 (2): 109-15.
- <sup>25</sup>Salerno-Goncalves R, Lu W, Achour A, et al. HLA unrestricted killing of HIV-1 gag protein expressing CD4 T cells by gag-specific CD8 cytotoxic T cells. *AIDS*. 1999; 13 (12): 1583-4.
- <sup>26</sup>Paxton WA, Martin SR, Tse D, et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high risk sexual exposure. *Nat Med*. 1996; 2 (4): 412-17.
- <sup>27</sup>Spijkerman IJB, Koot M, Prins M, et al. Lower prevalence and incidence of HIV-1 infection syncytium-inducing phenotype among injecting drug users compared with homosexual men. *AIDS*. 1995; 9 (9): 1085-92.
- <sup>28</sup>Poss M, Martin HL, Kreiss JK, et al. Diversity in virus populations from genital secretions and peripheral blood from women recently infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*. 1995; 69 (12): 8118-22.
- <sup>29</sup>Soto Ramirez LE, Renjifo B, McLane MF, et al. HIV-1 Langerhans' cell tropism associated with heterosexual transmission of HIV. *Science*. 1996; 271 (5253): 1291-3.
- <sup>30</sup>Padian NS, Shiboski SC, Jewell NP. Female-to-male transmission of human immunodeficiency virus. *JAMA*. 1991; 266 (12): 1664-7.
- <sup>31</sup>Nicolosi A, Correa Leite ML, Musicco M, et al. The efficiency of male-to-female sexual transmission of the human immunodeficiency virus: a study of 730 stable couples. Italian Study Group on HIV Heterosexual Transmission. *Epidemiology*. 1994; 5 (6): 570-5.
- <sup>32</sup>Tumwesigye E, Loue S, Mortimer EA Jr, et al. Changing prevalence of HIV infection and the clinical findings in women attending a Uganda STD clinic. 4<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic infections, Washington, DC, USA, 22-26 January 1997. Abstract: 98.
- <sup>33</sup>Stamm WE, Handsfield HH, Rompalo AM, et al. The association between genital ulcer disease and acquisition of HIV infection in homosexual men. *JAMA*. 1988; 260 (10): 1429-33.
- <sup>34</sup>Laga M, Manoka A, Kivuvu M, et al. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS*. 1993; 7(1): 95-102.
- <sup>35</sup>Cohen CR, Duerr A, Pruthithada N, et al. Bacterial vaginosis and HIV seroprevalence among female commercial sex workers in Chiang Mai, Thailand. *AIDS*. 1995; 9: 1093-7.
- <sup>36</sup>Fennema JSA, van Ameijden EJC, Coutinho RA, et al. HIV, sexually transmitted diseases and gynaecologic disorders in women: increased risk for genital herpes and warts among HIV infected prostitutes in Amsterdam. *AIDS*. 1995; 9 (9): 1071-8.
- <sup>37</sup>Alger LS, Farley JJ, Robinson BA, et al. Interactions of human immunodeficiency virus infection and pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1993; 82 (5): 787-96.
- <sup>38</sup>Wasserheit JN. Epidemiological synergy. Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis*. 1992; 19 (2): 61-77.
- <sup>39</sup>Grosskurth H, Mosha F, Todd J, et al. Impact of improved treatment of sexually transmitted diseases on HIV infection in rural Tanzania: randomised controlled trial. *Lancet*. 1995; 346: 530-6.
- <sup>40</sup>Mostad SB. Prevalence and correlates of HIV type 1 shedding in the female genital tract. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1998; 14 (suppl 1): S11-5.
- <sup>41</sup>Mostad SB, Kreiss JK. Shedding of HIV-1 in the genital tract. *AIDS*. 1996; 10: 1305-15.
- <sup>42</sup>Clemetson DBA, Moss GB, Willerford DM, et al. Detection of HIV DNA in cervical and

- vaginal secretions. Prevalence and correlates among women in Nairobi, Kenya. *JAMA*. 1993; 269 (22): 2860-4.
- <sup>43</sup>Marx PA, Spira AI, Gettie A, et al. Progesterone implants enhance SIV vaginal transmission and early virus load. *Nat Med*. 1996; 2 (10): 1084-9.
- <sup>44</sup>White HD, Crassi KM, Givan AL, et al. CD3+ CD8+ CTL activity within the human female reproductive tract: Influence of stage of the menstrual cycle and menopause. *J Immunol*. 1997; 158 (6): 3017-27.
- <sup>45</sup>Kapiga SH, Shao JF, Lwihula GK, Hunter DJ. Risk factors for HIV infection among women in Dar-es-Salaam, Tanzania. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1994; 7 (3): 301-9.
- <sup>46</sup>Mati JK, Hunter DJ, Maggwa BN, Tukei PM. Contraceptive use and the risk of HIV infection in Nairobi, Kenya. *Int J Gynaecol Obstet*. 1995; 48 (1): 61-7.
- <sup>47</sup>Allen S, Lindan C, Serufilira A, et al. Human immunodeficiency virus infection in urban Rwanda. *JAMA*. 1991; 266 (12): 1657-63.
- <sup>48</sup>Martin HL, Nyange PM, Jackson DJ, et al. Risk factors for seroconversion in commercial sex workers in Mombasa, Kenya: Role of hormonal contraceptives and STDs. 10<sup>th</sup> International Conference on AIDS, Yokohama, Japan 1994. Abstract.
- <sup>49</sup>Gorsky RD, Farnham PG, Straus WL, et al. Preventing perinatal transmission of HIV-costs and effectiveness of a recommended intervention. *Public Health Rep*. 1996; 111 (4): 335-41.
- <sup>50</sup>Wiznia AA, Crane M, Lambert G, et al. Zidovudine use to reduce perinatal HIV type 1 transmission in an urban medical center. *JAMA*. 1996; 275 (19): 1514-5.
- <sup>51</sup>Mauskopf JA, Paul JE, Wichman DS, et al. Economic impact of treatment of HIV positive pregnant women and their newborns with zidovudine. Implications for HIV screening. *JAMA*. 1996; 276 (2): 132-8.
- <sup>52</sup>Temin HM. Origin and general nature of retroviruses. En: Jay A. Levy, eds. *The Retroviridae*. Tomo I. New York and London: Plenum Press; 1992: 1-18.
- <sup>53</sup>Coffin JM. Structure and classification of retroviruses. En: Jay A. Levy, eds. *The Retroviridae*. Tomo I. New York and London: Plenum Press; 1992: 19-49.
- <sup>54</sup>Coffin JM. En: BN Fields and DM Knipe, eds. *Retroviridae and their replication*. New York: Raven Press; 1990; Vol 2: 1437-500.
- <sup>55</sup>Lee H, Swanson P, Shorty VS, et al. High rate of HTLV II infection in seropositive IV drug abusers in New Orleans. *Science*. 1989; 244 (4903): 471-5.
- <sup>56</sup>Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986; 233 (4761): 343-6.
- <sup>57</sup>Manzari V, Collalti E, Silvestri I et al. Human T lymphotropic virus V: HTLV-V. En: WA Blatner, eds. *Human Retrovirology HTLV*. New York: Raven Press; 1990: 143-6.
- <sup>58</sup>Gelderblom HR, Ozel M, Pauli G. Morphogenesis and morphology of HIV. Structure-function relations. *Arch Virol*. 1989; 106 (1-2): 1-13.
- <sup>59</sup>Greene WC. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med*. 1991; 324 (5): 308-17.
- <sup>60</sup>Steffy K, Wong-Staal F. Genetic regulation of human immunodeficiency virus. *Microbiol Rev*. 1991; 55 (2): 193-205.
- <sup>61</sup>Helseth E, Olshevsky U, Furman C, Sodroski J. Human immunodeficiency virus type 1 Gp120 envelope glycoprotein regions important for association with the Gp41 transmembrane glycoprotein. *J Virol*. 1991; 65 (4): 2119-2123.
- <sup>62</sup>Schnittman SM, Lane HC, Roth J, et al. Characterization of Gp 120 binding to CD4 and an assay that measures ability of sera to inhibit this binding. *J Immunol*. 1988; 141 (12): 4181-6.
- <sup>63</sup>Tan X, Pearce-Pratt R, Phillips DM. Productive infection of a cervical epithelial cell line with human immunodeficiency virus: implications for sexual transmission. *J Virol*. 1993; 67 (11): 6447-52.

- <sup>64</sup>Glick M, Trope M, Bagasra O, Pliskin ME. Human immunodeficiency virus infection of fibroblasts of dental pulp in seropositive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991; 71 (6): 733-6.
- <sup>65</sup>Housset C, Lamas E, Courgnaud V, et al. Presence of HIV-1 in human parenchymal and non parenchymal liver cells in vivo. *J Hepatol.* 1993; 19 (2): 252-8.
- <sup>66</sup>Stahmer I, Zimmer JP, Ernst M, et al. Isolation of normal human follicular dendritic cells and CD4-independent in vitro infection by human immunodeficiency virus (HIV-1). *Eur J Immunol.* 1991; 21 (8): 1873-8.
- <sup>67</sup>Cheng-Mayer C, Rutka JT, Rosenblum ML, et al. Human immunodeficiency virus can productively infect cultured human glial cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987; 84 (10): 3526-30.
- <sup>68</sup>Robinson WE, Montefiori DC, Mitchell WM. Complement-mediated antibody-dependent enhancement of HIV-1 infection requires CD4 and complement receptors. *Virology.* 1990; 175 (2): 600-4.
- <sup>69</sup>Horvat RT, Wood C, Balachandran N. Transactivation of human immunodeficiency virus promoter by human herpes-virus 6. *J Virol.* 1989; 63 (2): 970-3.
- <sup>70</sup>Margalith M, D'Aquila RT, Manion DJ, et al. HIV-1 DNA in fibroblast cultures infected with urine from HIV seropositive cytomegalovirus (CMV) excretors. *Arch Virol.* 1995; 140 (5): 927-35.
- <sup>71</sup>McKeating JA, Cordell J, Dean CJ, Balfe P. Synergistic interaction between ligands binding to the CD4 binding site and V3 domain of human immunodeficiency virus type 1 Gp 120. *Virology.* 1992; 191 (2): 732-42.
- <sup>72</sup>Willey RL, Theodore TS, Martin MA. Amino acid substitutions in the human immunodeficiency virus type 1 Gp 120 V3 loop that change viral tropism also alter physical and functional properties of the virion envelope. *J Virol.* 1994; 68 (7): 4409-19.
- <sup>73</sup>Wolfs T, Nara P, Goudsmit J. Genotypic and phenotypic variation of HIV-1: impact on AIDS pathogenesis and vaccination. *Chem Immunol.* 1993; 260: 1513-6.
- <sup>74</sup>Peeters M, Vincent R, Perret JL, et al. Evidence for differences in MT2 cell tropism according to genetic subtypes of HIV-1: syncytium inducing variants seem rare among subtype C HIV-1 viruses. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1999; 20 (2): 115-21.
- <sup>75</sup>de Jong JJ, Goudsmit J, Keulen W, et al. Human immunodeficiency virus type 1 clones chimeric for the envelope V3 domain differ in syncytium formation and replication capacity. *J Virol.* 1992; 66 (2): 757-65.
- <sup>76</sup>Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol Rev.* 1993; 57 (1): 183-289.
- <sup>77</sup>Haynes BF, Pantaleo G, Fauci AS. Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. *Science.* 1996; 271 (5247): 324-8.
- <sup>78</sup>MacDonald KS, Embree J, Njenga S, et al. Mother-child class I HLA concordance increases perinatal human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J Infect Dis.* 1998; 177 (3): 551-6.
- <sup>79</sup>Plummer FA, Simonsen JN, Cameron DW, et al. Cofactors in male-female sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis.* 1991; 163 (2): 233-9.
- <sup>80</sup>Clerici M, Wynn TA, Berzofsky JA, et al. Role of interleukin-10 in T helper cell dysfunction in asymptomatic individuals infected with the human immunodeficiency virus. *J Clin Invest.* 1994; 93 (2): 768-75.
- <sup>81</sup>Clerici M, Shearer GM. A TH1-TH2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol Today.* 1993; 14 (3): 107-11.
- <sup>82</sup>Clerici M, Shearer GM. The Th1-Th2 hypothesis of HIV infection: new insights. *Immunol Today.* 1994; 15 (12): 575-81.
- <sup>83</sup>Valentín A, Trivedi H, Lu W, et al. CXCR4 mediates entry and productive infection of syncytia-inducing (X4) HIV-1 strains in primary macrophages. *Virology.* 2000; 269 (2): 294-304.

- <sup>84</sup>Schnittman SM, Lane HC, Greenhouse J, et al. Preferential infection of CD4+ memory T cells by human immunodeficiency virus type 1: Evidence for a role in selective T cell functional defects observed in infected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 87 (16): 6058-62.
- <sup>85</sup>Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature*. 1993; 362 (6418): 355-8.
- <sup>86</sup>Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med*. 1997; 126 (12): 946-54.
- <sup>87</sup>Levy JA, Mackewicz CE, Barker E. Controlling HIV pathogenesis: the role of noncytotoxic anti-HIV response of CD8+ T cells. *Immunol Today*. 1996; 17 (5): 217-24.
- <sup>88</sup>Mackewicz CE, Yang LC, Lifson JD, Levy JA. Non-cytolytic CD8+ T-cell anti-HIV response in primary HIV-1 infection. *Lancet*. 1994; 344 (8938): 1671-3.
- <sup>89</sup>Cocchi F, DeVico AI, Garzino-Demo A, Arya SK, et al. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science*. 1995; 270 (5243): 1811-5.
- <sup>90</sup>Pantaleo G, Demarest JF, Soudeyrs H et al. Major expansion of CD8+ T cells with a predominant Vβ usage during the primary immune response to HIV. *Nature*. 1994; 370 (6489): 463-7.
- <sup>91</sup>Brinchmann JE, Gaudernack G, Vartdal F. CD 8+ T cells inhibit HIV replication in naturally infected CD 4+ T cells. Evidence for a soluble inhibitor. *J Immunol*. 1990; 144 (8): 2961-6.
- <sup>92</sup>Esser R, von Briesen H, Brugger M, et al. Secretory repertoire of HIV infected human monocytes-macrophages. *Pathobiology*. 1991; 59(4): 219-22.
- <sup>93</sup>Mansour I, Doinel C, Rouger P. CD16+ NK cells decrease in all stages of HIV infection through a selective depletion of CD16+CD8+CD3- subset. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1990; 6 (12): 1451-7.
- <sup>94</sup>Ljunggren K, Karlson A, Fenyo EM, Jondal M. Natural and antibody-dependent cytotoxicity in different clinical stages of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Exp Immunol*. 1989; 75 (2): 184-9.
- <sup>95</sup>Ahmad A, Menezes J. Defective killing activity against Gp120/41 expressing human erythroleukaemic K562 cell line by monocytes and natural killer cells from HIV infected individuals. *AIDS*. 1996; 10 (2): 143-9.
- <sup>96</sup>Terpstra FG, Al BJ, Roos MT, et al. Longitudinal study of leukocyte functions in homosexual men seroconverted for HIV: rapid and persistent loss of B cell function after HIV infection. *Eur J Immunol*. 1989; 19 (4): 667-73.
- <sup>97</sup>Reddy MM, Goetz RR, Gorman JM, et al. Human immunodeficiency virus type 1 infection of homosexual men is accompanied by a decrease in circulating B cells. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1991; 4 (4): 428-34.
- <sup>98</sup>Burns DN, Nourjah P, Minkoff H, et al. Changes in CD4+ and CD8+ cell levels during pregnancy and post partum in women seropositive and seronegative for human immunodeficiency virus type 1. *Am J Obstet Gynecol*. 1996; 174 (5): 1461-8.
- <sup>99</sup>Brettle RP, Raab GM, Ross A, et al. HIV infection in women: immunological markers and the influence of pregnancy. *AIDS*. 1995; 9 (10): 1177-84.
- <sup>100</sup>Tuomala RE, Kalish LA, Zorilla C, et al. Changes in total, CD4+ and CD8+ lymphocytes during pregnancy and one year postpartum in human immunodeficiency virus-infected women. The Women and Infants Transmission study. *Obstet Gynecol*. 1997; 89 (6): 967-74.
- <sup>101</sup>Gloeb DJ, Lai S, Efantis J, O'Sullivan MJ. Survival and disease progression in human immunodeficiency virus infected women after an index delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 167 (1): 152-7.
- <sup>102</sup>Minkoff HL, Willoughby A, Mendez H, et al. Serious infections during pregnancy among women with advanced HIV infection. *Am Obstet Gynecol*. 1990; 162 (1): 30-4.

- <sup>103</sup>Hocke C, Morlat P, Chene G, et al. Prospective cohort study of the effect of pregnancy on the progression of human immunodeficiency virus infection. The Groupe d'Epidemiologie Clinique Du SIDA en Aquitaine. *Obstet Gynecol.* 1995; 86 (6): 886-91.
- <sup>104</sup>Alliegro MB, Dorrucchi M, Phillips AN, et al. Incidence and consequences of pregnancy in women with known duration of HIV infection. Italian Seroconversion Study Group. *Arch Intern Med.* 1997; 157 (22): 2585-90.
- <sup>105</sup>Bessinger R, Clark R, Kissinger P, et al. Pregnancy is not associated with progression of HIV disease in women attending an HIV outpatient program. *Am J Epidemiol.* 1998; 147 (5): 434-40.
- <sup>106</sup>Burns DN, Landesman S, Minkoff H, et al. The influence of pregnancy on human immunodeficiency virus type 1 infection: antepartum and postpartum changes in human immunodeficiency virus type 1 viral load. *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 178 (2): 355-9.
- <sup>107</sup>Robinson WR, deShazo RD, Morgan JE. Effects of HIV infection on pregnancy. A clinical and immunologic evaluation. *Ann Allergy.* 1991; 67 (3): 350-4.
- <sup>108</sup>Temmerman M, Nagelkerke N, Bwayo J, et al. HIV-1 and immunological changes during pregnancy: a comparison between HIV-1 seropositive and HIV-1 seronegative women in Nairobi, Kenya. *AIDS.* 1995; 9 (9): 1057-60.
- <sup>109</sup>Miotti PG, Liomba G, Dallabetta GA, et al. T lymphocyte subsets during and after pregnancy: analysis in human immunodeficiency virus type-1 infected and uninfected Malawian mothers. *J Infect Dis.* 1992; 165 (6): 1116-9.
- <sup>110</sup>Rich KC, Siegel JN, Jennings C, et al. CD4+ lymphocytes in perinatal human immunodeficiency virus (HIV) infection: evidence for pregnancy induced immune depression in uninfected and HIV infected women. *J Infect Dis.* 1995; 172 (5): 1221-7.
- <sup>111</sup>Turner BJ, McKee LJ, Silverman NS, et al. Prenatal care and birth outcomes of a cohort of HIV infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1996; 12 (3): 259-67.
- <sup>112</sup>Makuwa M, Taty E, Beuzit Y, et al. Retrospective study of infection by the human immunodeficiency virus in pregnant women. Future of the child and the mother. *Med Trop Mars.* 1992; 52 (2): 125-9.
- <sup>113</sup>Minkoff HL, Henderson C, Mendez H, et al. Pregnancy outcomes among mothers infected with human immunodeficiency virus and uninfected control subjects. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; 163 (5 pt 1): 1598-604.
- <sup>114</sup>Selwyn PA, Schoenbaum EE, Davenny K, et al. Prospective study of human immunodeficiency virus infection and pregnancy outcomes in intravenous drug users. *JAMA.* 1989; 261 (9): 1289-94.
- <sup>115</sup>Ryder RW, Nsa W, Hasig SE, et al. Perinatal transmission of the human immunodeficiency virus type 1 to infants of seropositive women in Zaire. *N Engl J Med.* 1989; 320 (25): 1637-42.
- <sup>116</sup>Temmerman M, Chomba EN, Ndinya-Achola J, et al. Maternal HIV-1 infection and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol.* 1994; 83 (4): 495-501.
- <sup>117</sup>Blanche S, Mayaux MJ, Rouzioux C, et al. Relation of the course of HIV infection in children to the severity of the disease in their mothers at delivery. *N Engl J Med.* 1994; 330 (5): 308-12.
- <sup>118</sup>Dickover RE, Garratty EM, Herman SA, et al. Identification of levels of maternal HIV-1 RNA associated with risk of perinatal transmission. Effect of maternal zidovudine treatment on viral load. *JAMA.* 1996; 275 (8): 599-605.
- <sup>119</sup>De Maria A, Cirillo C, Moretta L. Occurrence of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) specific cytolytic T cell activity in apparently uninfected children born to HIV-1 infected mothers. *J Infect Dis.* 1994; 170 (5): 1296-9.
- <sup>120</sup>Cao Y, Qin L, Zhang L, et al. Virologic and immunologic characterization of longterm survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1995; 332 (4): 201-8.

- <sup>121</sup>Cournaud V, Laure F, Brossard A, et al. Frequent and early in utero HIV-1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1991; 7 (3): 337-41.
- <sup>122</sup> Anderson VM, Zevallos E. Pathology of pediatric AIDS. *Pathology (Phila)*. 1993; 2 (1): 81-101.
- <sup>123</sup>Schwartz DA, Nahmias AJ. Human immunodeficiency virus and the placenta. Current concepts of vertical transmission in relation to other viral agents. *Ann Clin and Lab Science*. 1991; 21 (4): 264-74.
- <sup>124</sup>Goldstein J, Braverman M, Salafia C, Buckley P. The phenotype of human placental macrophages and its variation with gestational age. *Am J Pathol*. 1988; 133 (3): 648-59.
- <sup>125</sup>Reuben JM, Gonik B, Li S, et al. Induction of cytokines in normal placental cells by the human immunodeficiency virus. *Lymphokine Cytokine Res*. 1991; 10 (3): 195-9.
- <sup>126</sup>Beer A, Kwak J, Ruiz J. The biological basis of passage of fetal cellular material into the maternal circulation. *Ann NY Acad Sci*. 1994; 731: 21-35.
- <sup>127</sup>Altshuler G. Chorangiomas: An important placental sign of neonatal morbidity and mortality. *Arch Pathol Lab Med*. 1984; 108 (1): 71-4.
- <sup>128</sup>Boyer P, Dillon M, Navaie M, et al. Factors predictive of maternal fetal transmission of HIV-1: Preliminary analysis of zidovudine (ZDV) given during pregnancy and/or delivery. *JAMA*. 1994; 271 (24): 1925-30.
- <sup>129</sup>Douglas GC, Fry GN, Thirkill T, et al. Cell-mediated infection of human placental trophoblast with HIV in vitro. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1991; 7 (9): 735-40.
- <sup>130</sup>Fazely F, Fry GN, Thirkill TL, et al. Kinetics of HIV infection of human placental syncytiotrophoblast cultures: an ultrastructural and immunocytochemical study. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1995; 11 (9): 1023-30.
- <sup>131</sup>Toth FD, Aboagye-Mathiesen G, Szabo J, et al. Bidirectional enhancing activities between human T cell leukemia-lymphoma virus type 1 and human cytomegalovirus in human term syncytiotrophoblast cells cultured in vitro. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1995; 11 (12): 1495-1507.
- <sup>132</sup>Jauniaux E, Nessmann C, Imbert MC, et al. Morphological aspects of the placenta in HIV pregnancies. *Placenta*. 1988; 9 (6): 633-42.
- <sup>133</sup>Villegas Castrejón H, Paredes Vivas Y, Flores Rivera E, et al. Comparative study of the placenta from HIV+ mothers. Ultrastructural analysis. *Ginecol Obstet Mex*. 1996; 64: 167-76.
- <sup>134</sup>Villegas Castrejón H, Reyes Fuentes A, Pinon Lopez MJ, Arredondo García JL. The morphological aspects of the placenta, embryonic tissues and semen in human immunodeficiency virus infections. *Ginecol Obstet Mex*. 1990; 58: 333-7.
- <sup>135</sup>Gichangi PB, Nyongo AO, Temmerman M. Pregnancy outcome and placental weights: their relationship to HIV-1 infection. *East Afr Med J*. 1993; 70 (2): 85-9.
- <sup>136</sup>Martin AW, Brady K, Smith SI, et al. Immunohistochemical localization of human immunodeficiency virus p24 antigen in placental tissue. *Hum Pathol*. 1992; 23 (4): 411-4.
- <sup>137</sup>McGann KA, Collman R, Kolson DL, et al. Human immunodeficiency virus type 1 causes productive infection of macrophages in primary placental cell cultures. *J Infect Dis*. 1994; 169 (4): 746-53.
- <sup>138</sup>Backé E, Jimenez E, Unger M, et al. Demonstration of HIV-1 infected cells in human placenta by in situ hybridization and immunostaining. *J Clin Pathol*. 1992; 45 (10): 871-4.
- <sup>139</sup>Schwartz DA, Sungkarat S, Shaffer N, et al. Placental abnormalities associated with human immunodeficiency virus type 1 infection and perinatal transmission in Bangkok, Thailand. *J Infect Dis*. 2000; 182 (6): 1652-7.
- <sup>140</sup>Nelson A, Anderson V, Ryder R, et al. Choroamnionitis (CA) in Zairian women who are seropositive for the human immunodeficiency virus (HIV). *Lab Invest*. 1988; 58: 66 A.

- <sup>141</sup>Baumann JGJ, Van der Ploeg M, Van Duijin P. Fluorescent hybridocytochemical procedures: DNA-RNA hybridization in situ. In: Chayen J, Bitensky L. *Investigative Microtechniques in Medicine and Microbiology*. New York: Marcel Dekker; 1984: 41-48.
- <sup>142</sup>Landesman SH, Kalish LA, Burns DN, et al. Obstetrical factors and the transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to child. *N Engl J Med* .1996; 334 (25): 1617-23.
- <sup>143</sup>Redline RW, Patterson P. Villitis of unknown etiology is associated with major infiltration of fetal tissue by maternal inflammatory cells. *Am J Pathol*. 1993; 143 (2): 473-9.
- <sup>144</sup>Pollack RN, Sklarin NT, Rao S, Divon MY. Metastatic placental lymphoma associated with maternal human immunodeficiency virus infection. *Obstet Gynecol*. 1993; 81 (pt 2): 856-7.
- <sup>145</sup>Steketee RW, Wirima JJ, Bloland PB, et al. Impairment of a pregnant woman's acquired ability to limit plasmodium falciparum by infection with human immunodeficiency virus type 1. *Am J Trop Med Hyg*. 1996; 55 (suppl 1): 42-9.
- <sup>146</sup>Smith KJ, Skelton HG, Angritt P, et al. Cutaneous lesions of listeriosis in a newborn. *J Cutan Pathol*. 1991; 18 (6): 474-6.
- <sup>147</sup>Doyle M, Atkins JT, Rivera-Matos IR. Congenital cytomegalovirus infection in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J*. 1996; 15 (12): 1102-6.
- <sup>148</sup>Zevallos E, Bard E, Anderson VM, et al. HIV in situ PCR and reverse transcribed in situ PCR. *Cell Vision*.1994; 1: 52-55.
- <sup>149</sup>Patterson BK, Till M, Otto P. Detection of HIV-1 DNA and messenger RNA in individual cells by PCR-driven in situ hybridization and flow cytometry. *Science*. 1993; 260 (5110): 976-9.
- <sup>150</sup>Zevallos E, Bard, Anderson VM; et al. Detection of HIV-1 gag sequences in the placentas of HIV seropositive mothers using in situ polymerase chain reaction. *Cell Vision*. 1994; 1: 116-21.
- <sup>151</sup>Semba RD, Miotti PG, Chipangwi JD, et al. Maternal vitamin A deficiency and mother to child transmission of HIV-1. *Lancet*. 1994; 343: 1593-7.
- <sup>152</sup>Semba RD. Vitamin A, immunity, and infection. *Clin Infect Dis*. 1994; 19 (3): 489-99.
- <sup>153</sup>Lyden TW, Johnson PM, Mwenda J, Rote NS. Expression of endogenous HIV-1 crossreactive antigens within normal human extravillous trophoblast cells. *J Reprod Immunol* 1995; 28 (3): 233-45.
- <sup>154</sup>Rabreau M, Rouas-Freiss N, Landi M, et al. HLA-G expression in trophoblast cells is independent of embryonic development. *Hum Immunol*. 2000; 61 (11): 1108-12.
- <sup>155</sup>Chen HL, Yang YP, Hu XL, et al. Tumor necrosis factor alpha mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. *Am J Pathol*. 1991; 139 (2): 327-35.
- <sup>156</sup>Mitchel M, Trautman M, Dudley D. Cytokine networking in the placenta. *Placenta*. 1993; 14: 249-75.
- <sup>157</sup>Schwartz DH, Sharma UK, Perlman EJ, Blakemore K. Adherence of human immunodeficiency virus infected lymphocytes to fetal placental cells: A model of maternal to fetal transmission. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92 (4): 978-82.
- <sup>158</sup>Lederman MM, Kalish LA, Asmuth D, et al. "Modeling" relationships among HIV-1 replication, immune activation and CD4+ T cell losses using adjusted correlative analyses. *AIDS*. 2000; 14 (8): 951-8.
- <sup>159</sup>Auci D, Anderson VM, Feldman J, et al. Cell cycle alterations in the HIV exposed placenta. 11<sup>th</sup> International Conference on AIDS, Vancouver, BC, Canada, 7-12 July 1996. Abstract.
- <sup>160</sup>Anderson VM, Bard E, Zevallos E, et al. HIV clearance. *Lancet*. 1996; 347: 1122-3.
- <sup>161</sup>Chin J, Sato PA, Mann JM. Projections of HIV infections and AIDS cases to the year 2000. *Bull WHO*. 1990; 68 (1): 1-11.
- <sup>162</sup>Holmberg SD, Horsburgh CR, Ward JW, Jaffe HW. Biologic factors in the sexual

- transmission of human immunodeficiency virus. *J Infect Dis.* 1989; 160 (1): 116-25.
- <sup>163</sup>Peterman TA, Stoneburner RL, Allen JR, et al. Risk of human immunodeficiency virus transmission from heterosexual adults with transfusion associated infections. *JAMA.* 1989; 262 (4): 502.
- <sup>164</sup>Goedert JJ, Eyster ME, Biggar RJ, Blattner WA. Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus: association with severe depletion of T helper lymphocytes in men with hemophilia. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1987; 3 (4): 355-61.
- <sup>165</sup>Laga M, Taelman H, Van der Stuyft P, et al. Advanced immunodeficiency as a risk factor for heterosexual transmission of HIV. *AIDS.* 1989; 3 (6): 361-6.
- <sup>166</sup>Vogt MW, Witt DJ, Craven DE, et al. Isolation of HTLV III/LAV from cervical secretions of women at risk for AIDS. *Lancet.* 1986; 1 (8480): 525-7.
- <sup>167</sup>John GC, Nduati RW, Mbori-Ngacha D, et al. Genital shedding of human immunodeficiency virus type 1 DNA during pregnancy: association with immunosuppression, abnormal cervical or vaginal discharge, and severe vitamin A deficiency. *J Infect Dis.* 1997; 175 (1): 57-62.
- <sup>168</sup>Seage GR III, Horsburgh CR Jr, Hardy AM, et al. Increased suppressor T cells in probable transmitters of human immunodeficiency virus infection. *Am J Public Health.* 1989; 79 (12): 1638-42.
- <sup>169</sup>Massimo M, Angarano G, Saracco A, et al. Antiretroviral therapy reduces the rate of sexual transmission of HIV-1 from man to women. 8<sup>th</sup> International Conference on AIDS/III STD World Congress. Amsterdam, The Netherlands, July 19-24 1992. Abstract: WeC 1088.
- <sup>170</sup>Ivanoff LA, Dubay JW, Morris JF, et al. V3 loop region of the HIV-1 Gp 120 envelope protein is essential for virus infectivity. *Virology.* 1992; 187 (2): 423-32.
- <sup>171</sup>Fiore JR, Jansson M, Scarlatti G, et al. Correlation between seroreactivity to HIV-1 V3 loop peptides and male-to-female heterosexual transmission. *AIDS.* 1993; 7: 29-31.
- <sup>172</sup>European Study Group on Heterosexual Transmission of HIV. Comparison of female to male and male to female transmission of HIV in 563 stable couples. *Br Med J.* 1992; 304 (6830): 809-13.
- <sup>173</sup>Goto Y, Yeh CK, Notkins AL, Prabhakar BS. Detection of proviral sequences in saliva of patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1991; 7 (3): 343-7.
- <sup>174</sup>Cameron DW, Simonsen JN, D'Costa LJ, et al. Female to male transmission of human immunodeficiency virus type 1: Risks factors for seroconversion in men. *Lancet.* 1989; 2 (8660): 403-7.
- <sup>175</sup>Wolff H, Anderson DJ. Male genital tract inflammation associated with increased numbers of potential human immunodeficiency virus host cells in semen. *Andrologia.* 1988; 20 (5): 404-10.
- <sup>176</sup>Stamm WE, Handsfield HH, Rompalo AM, et al. The association between genital ulcer disease and acquisition of HIV infection in homosexual men. *JAMA.* 1988; 260 (10): 1429-33.
- <sup>177</sup>Greenblatt RM, Lukehart SA, Plummer FA, et al. Genital ulceration as a risk factor for human immunodeficiency virus infection. *AIDS.* 1988; 2 (1): 47-50.
- <sup>178</sup>Weir SS, Roddy RE, Zekeng L, Feldblum PJ. Nonoxynol-9 use, genital ulcers, and HIV infection in a cohort of sex workers. *Genitourin Med.* 1995; 71 (2): 78-81.
- <sup>179</sup>Kingsley LA, Detels R, Kaslow R, et al. Risk factors for seroconversion to human immunodeficiency virus among male homosexuals: Results from the Multicenter AIDS Cohort Study. *Lancet.* 1987; 1 (8529): 345-9.
- <sup>180</sup>Kennedy M, Moore J, Schuman P, et al. Sexual behavior of HIV infected women reporting recent sexual contact with women. *JAMA.* 1998; 280 (1): 29-30.
- <sup>181</sup>Lazzarin A, Saracco A, Mussico M, Nicolosi A. Man to woman sexual transmission of the human immunodeficiency virus. Risk factors related to sexual behavior, man's infectiousness, and woman's susceptibility. Italian Study Group

- on HIV Heterosexual Transmission. Arch Intern Med. 1991; 151 (12): 2411-6.
- <sup>182</sup>Moss GB, Clemetson D, D'Costa L, et al. Association of cervical ectopy with heterosexual transmission of human immunodeficiency virus: results of a study of couples in Nairobi, Kenya. J Infect Dis. 1991; 164 (3): 588-91.
- <sup>183</sup>Lifson AR, O'Malley PM, Hessel NA, et al. HIV seroconversion in two homosexual men after receptive oral intercourse with ejaculation: Implications for counseling concerning safe sexual practices. Am J Public Health. 1990; 80 (12): 1509-11.
- <sup>184</sup>Marion SA, Schechter MT, Weaver MS, et al. Evidence that prior immune dysfunction predisposes to human immunodeficiency virus infection in homosexual men. J Acquir Immune Defic Syndr. 1989; 2 (2): 178-86.
- <sup>185</sup>Nelson KE, Vlahov D, Cohn S, et al. Sexually transmitted diseases in a population of intravenous drug users: Association with seropositivity to the human immunodeficiency virus (HIV). J Infect Dis. 1991; 164 (3): 457-63.
- <sup>186</sup>Curran JW, Lawrence DN, Jaffe H, et al. Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) associated with transfusions. Engl J Med. 1984; 310 (2): 69-75.
- <sup>187</sup>Donegan E, Stuart M, Niland JC, et al. Infection with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) among recipients of antibody positive blood donations. Ann Intern Med. 1990; 113 (10): 733-9.
- <sup>188</sup>Wells MA, Wittek AE, Epstein JS, et al. Inactivation and partition of human T cell lymphotropic virus, type III, during ethanol fractionation of plasma. Transfusion. 1986; 26 (2): 210-3.
- <sup>189</sup>Ward JW, Holmberg SD, Allen JR, et al. Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusion screened as negative for HIV antibody. N Engl J Med. 1988; 318 (8): 473-8.
- <sup>190</sup>Erice A, Rhame FS, Heussner RC, et al. Human immunodeficiency virus infection in patients with solid organ transplants: Report of five cases and review. Rev Infect Dis. 1991; 13 (4): 537-47.
- <sup>191</sup>Pepose JS, MacRae S, Quinn TC, Ward JW. Serologic markers after the transplantation of corneas from donors infected with human immunodeficiency virus. Am J Ophthalmol. 1987; 103 (6): 798-801.
- <sup>192</sup>Tokars JI, Marcus R, Culver DH, et al. Surveillance of HIV infection and zidovudine use among health care workers after occupational exposure to HIV- infected blood. The CDC Cooperative Needlestick Surveillance Group. Ann Intern Med. 1993; 118 (12): 913-9.
- <sup>193</sup>Ippolito G, Puro V, De Carli G. The risk of occupational human immunodeficiency virus infection in health care workers. Italian multicenter study. The Italian Study Group on Occupational Risk of HIV infection. Arch Intern Med. 1993; 153 (12): 1451-8.
- <sup>194</sup>Ciesielski C, Marianos D, Ou CY, et al. Transmission of human immunodeficiency virus in a dental practice. Ann Intern Med. 1992; 116 (10): 798-805.
- <sup>195</sup>Centers for Disease Control and Prevention: Human immunodeficiency virus transmission in household settings-United States. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1994; 43 (19): 353-6.
- <sup>196</sup>Hersh BS, Popovici F, Apetrei RC, et al. Acquired immunodeficiency syndrome in Romania. Lancet. 1991; 338 (8768): 645-9.
- <sup>197</sup>Chant K, Lowe D, Rubin G, et al. Patient to patient transmission of HIV in private surgical consulting rooms (Letter). Lancet. 1993; 342: 1548-9.
- <sup>198</sup>Chiasson MA, Stoneburner RL, Joseph SC. Human immunodeficiency virus transmission through artificial insemination. J Acquir Immune Defic Syndr. 1990; 3 (1): 69-72.
- <sup>199</sup>Brechard N, Galea P, Silvy F, et al. Study of HIV localization in sperm. Contracept Fertil Sex. 1997; 25 (5): 389-91.
- <sup>200</sup>Pasquier C, Daudin M, Righi L, et al. Sperm washing and virus nucleic acid detection to reduce HIV and hepatitis C virus transmission in serodiscordant couples wishing to have children. AIDS. 2000; 14 (14): 2093-9.

- <sup>201</sup>Yeh CK, Handelman B, Fox PC, Baum BJ. Further studies of salivary inhibition of HIV-1 infectivity. *J Acquir Immun Defic Syndr*. 1992; 5 (9): 898-903.
- <sup>202</sup>Rogers MF, White CR, Sanders R, et al. Lack of transmission of human immunodeficiency virus from infected children to their household contacts. *Pediatrics*. 1990; 85 (2): 210-4.
- <sup>203</sup>Henderson DK, Fahey BJ, Willy M, et al. Risk for occupational transmission of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) associated with clinical exposures. A prospective evaluation. *Ann Intern Med*. 1990; 113 (10): 740-6.
- <sup>204</sup>Castro KG, Lieb S, Jaffe HW, et al. Transmission of HIV in Belle Glade, Florida: Lessons for other communities in the United States. *Science*. 1988; 239 (4836): 193-7.
- <sup>205</sup>Greenberg AE, Nguyen-Dinh P, Mann JM, et al. The association between malaria, blood transfusions, and HIV seropositivity in a pediatric population in Kinshasha, Zaire. *JAMA*. 1988; 259 (4): 545-9.
- <sup>206</sup>De Andreis C, Simoni G, Rosella F, et al. HIV-1 proviral DNA polymerase chain reaction detection in chorionic villi after exclusion of maternal contamination by variable number of tandem repeats analysis. *AIDS*. 1996; 10 (7): 711-5.
- <sup>207</sup>Mayaux MJ, Burgard M, Teglas JP, et al. Neonatal characteristics in rapidly progressive perinatally acquired HIV-1 disease. The French Pediatric HIV Infection Study Group. *JAMA*. 1996; 275 (8): 606-10.
- <sup>208</sup>Ukwu HN, Graham BS, Lambert JS, Wright PF. Perinatal transmission of human immunodeficiency virus 1 infection and maternal immunization strategies for prevention. *Obstet-Gynecol*. 1992; 80 (3): 458-68.
- <sup>209</sup>Ait-Khaled M, Lyall EG, Stainsby C, et al. Intrapartum mucosal exposure to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) of infants born to HIV-1 infected mothers correlates with maternal plasma virus burden. *J Infect Dis*. 1998; 177 (4): 1097-100.
- <sup>210</sup>Mrus JM, Goldie SJ, Weinstein MC, Tsevat J. The cost-effectiveness of elective cesarean delivery for HIV infected women with detectable HIV-RNA during pregnancy. *AIDS*. 2000; 14 (16): 2543-52.
- <sup>211</sup>McGowan JP, Shah SS. Management of HIV infection during pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2000; 12 (5): 357-67.
- <sup>212</sup>Maguire A, Sanchez E, Fortuny C, Casabona J. Potential risk factors for vertical HIV-1 transmission in Catalonia, Spain: the protective role of cesarean section. The Working Group in HIV-1 Vertical Transmission in Catalonia. *AIDS*. 1997; 11 (15): 1851-7.
- <sup>213</sup>Toniolo A, Serra C, Conaldi PG, et al. Productive HIV 1 infection of normal human mammary epithelial cells. *AIDS*. 1995; 9 (8): 859-66.
- <sup>214</sup>Ziegler JB, Cooper DA, Johnson RO, Gold J. Postnatal transmission of AIDS associated retrovirus from mother to infant. *Lancet*. 1985; 1 (8434): 896-8.
- <sup>215</sup>Dunn DT, Newell ML, Ades AE, Peckham CS. Risk of human immunodeficiency virus type 1 transmission through breastfeeding. *Lancet*. 1992; 340 (8819): 585-8.
- <sup>216</sup>Kotler DP. HIV in pregnancy. *Gastroenterol Clin North Am*. 1998; 27 (1): 269-80.
- <sup>217</sup>The European Collaborative Study. Vertical transmission of HIV-1: Maternal immune status and obstetric factors. *AIDS*. 1996; 10: 1675-81.
- <sup>218</sup>Sperling RS, Shapiro DE, Coombs RW, et al. Maternal viral load, zidovudine treatment and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med*. 1996; 335 (22): 1621-9.
- <sup>219</sup>European Collaborative Study. Risk factors for mother to child transmission of HIV-1. *Lancet*. 1992; 339 (8800): 1007-12.
- <sup>220</sup>Rossi P, Moschese V. Mother to child transmission of human immunodeficiency virus. *Faseb J*. 1991; 5 (10): 2419-26.
- <sup>221</sup>Burgard M, Mayaux MJ, Blanche S, et al. The use of viral culture and p24 antigen

- testing to diagnose human immunodeficiency virus infection in neonates. The HIV infection in Newborns French Collaborative Study Group. *N Engl J Med.* 1992; 327 (17): 1192-7.
- <sup>222</sup>Quinn TC, Kline RL, Halsey N, et al. Early diagnosis of perinatal HIV infection by detection of viral specific IgA antibodies. *JAMA.* 1991; 266 (24): 3439-42.
- <sup>223</sup>Cattaneo E, Zavattoni M, Baldanti F, et al. Diagnostic value of viral culture, polymerase chain reaction and western blot for HIV-1 infection in 218 infants born to HIV-infected mothers and examined at different ages. *New Microbiol.* 1999; 22 (4): 281-91.
- <sup>224</sup>Langston C, Lewis DE, Hammill HA, et al. Excess intrauterine fetal demise associated with maternal human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis.* 1995; 172 (6): 1451-60.
- <sup>225</sup>Schafer AP, Koch MA, Grosch-Worner I, et al. Labor, method of delivery and maternofetal transmission of HIV. *Geburtshilfe-Frauenheilkd.* 1994; 54 (11): 617-22.
- <sup>226</sup>De Rosi A, Ometto L, Mammano F, et al. Time course of antigenemia and seroconversion in infants with vertically acquired HIV-1 infection. *AIDS.* 1993; 7: 1528-9.
- <sup>227</sup>Dunn DT, Brandt CD, Krivine A, et al. The sensitivity of HIV-1 DNA polymerase chain reaction in the neonatal period and the relative contributions of intrauterine and intrapartum transmission. *AIDS.* 1995; 9 (9): F7-11.
- <sup>228</sup>Rouzioux C, Costagliola D, Burgard M, et al. Estimated timing of mother to child human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) transmission by use of a Markov mode. The HIV infection in Newborns French Collaborative Study Group. *Am J Epidemiol.* 1995; 142 (12): 1330-7.
- <sup>229</sup>Bertolli J, St. Louis ME, Simonds RJ, et al. Estimating the timing of mother to child transmission of human immunodeficiency virus in a breast-feeding population in Kinshasha, Zaire. *J Infect Dis.* 1996; 174 (4): 722-6.
- <sup>230</sup>Duliege AM, Amos CI, Felton S, et al. Birth order, delivery route, and concordance in the transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mothers to twins. *International Registry of HIV-Exposed Twins. J Pediatr.* 1995; 126 (4): 625-32.
- <sup>231</sup>Mayaux MJ, Blanch S, Rouzioux C, et al. Maternal factors associated with perinatal HIV-1 transmission: The French Cohort Study: 7 years of follow-up observation. The French Pediatric HIV Infection Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr Human Retrovirol.* 1995; 8 (2): 188-94.
- <sup>232</sup>Husson RN, Lan Y, Kojima E, et al. Vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1: Autologous neutralizing antibody, virus load, and virus phenotype. *J Pediatr.* 1995; 126 (6): 865-71.
- <sup>233</sup>Pantaleo G, Demarest JF, Vaccarezza M, et al. Effect of antiV3 antibodies on cell-free and cell to cell human immunodeficiency virus transmission. *Eur J Immunol.* 1995; 25 (1): 226-31.
- <sup>234</sup>Jenkins M, Landers D, Williamns-Herman D, et al. Association between anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) antibody-dependent cellular cytotoxicity antibody titers at birth and vertical transmission of HIV-1. *J Infect Dis.* 1994; 170 (2): 308-12.
- <sup>235</sup>Devash Y, Calvelli TA, Wood DG, et al. Vertical transmission of human immunodeficiency virus is correlated with the absence of high affinity/avidity maternal antibodies to the gp120 principal neutralizing domain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; 87 (9): 3445-9.
- <sup>236</sup>Nduati RW, John GC, Richardson BA, et al. Human immunodeficiency virus type 1 infected cells in breast milk: association with immunosuppression and vitamin A deficiency. *J Infect Dis.* 1995; 172 (6): 1461-8.
- <sup>237</sup>Nourse CB, Butler KM. Perinatal transmission of HIV and diagnosis of HIV infection in infants: a review. *Ir J Med Sci.* 1998; 167 (1): 28-32.
- <sup>238</sup>Papaevangelou V, Moore T, Nagaraj V, et al. Lack of predictive value of maternal

- human immunodeficiency virus p24 antigen for transmission of infection to their children. *Pediatr Infect Dis J.* 1992; 11 (10): 851-5.
- <sup>239</sup>Viscarello RR, DeGennaro NJ, Griffith SM, et al. Maternal serum HIV p24 antigen as marker for transmission of HIV from mother to child. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 170: 88-95.
- <sup>240</sup>Wolinsky SM, Wike CM, Korber BT, et al. Selective transmission of human immunodeficiency virus type 1 variants from mothers to infants. *Science.* 1992; 255 (5048): 1134-7.
- <sup>241</sup>Ometto L, Zanotto C, Maccabruni A, et al. Viral phenotype and host-cell susceptibility to HIV-1 infection as risk factors for mother to child HIV-1 transmission. *AIDS.* 1995; 9 (5): 427-34.
- <sup>242</sup>Reinhardt PP, Reinhardt B, Lathey JL, Spector SA. Human cord blood mononuclear cells are preferentially infected by non syncytium inducing, macrophage tropic human immunodeficiency virus type 1 isolates. *J Clin Microbiol.* 1995; 33 (2): 292-7.
- <sup>243</sup>Renjifo B, Fawzi W, Mwakagile D, et al. Differences in perinatal transmission among human immunodeficiency virus type 1 genotypes. *J Hum Virol.* 2001; 4 (1): 16-25.
- <sup>244</sup>Toth FD, Mosborg-Petersen P, Kiss J, et al. Antibody dependent enhancement of HIV-1 infection in human term syncytiotrophoblast cells cultured in vitro. *Clin Exp Immunol.* 1994; 96 (3): 389-94.
- <sup>245</sup>Douglas GC, Hu J, Thirkill TL, et al. Effect of cytokines and antiadhesion molecule antibodies on the adhesion of lymphocytic cells to human syncytiotrophoblast. *J Reprod Immunol.* 1994; 27 (1): 49-62.
- <sup>246</sup>Phillips DM. The role of the cell-to-cell transmission of HIV infection. *AIDS.* 1994; 8 (6): 719-31.
- <sup>247</sup>Burns DN, Landesman S, Muenz LR, et al. Cigarette smoking, premature rupture of membranes, and vertical transmission of HIV-1 among women with low CD4+ levels. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1994; 7 (7): 718-26.
- <sup>248</sup>St Louis ME, Kamenga M, Brown C, et al. Risk for perinatal HIV-1 transmission according to maternal immunologic, virologic and placental factors. *JAMA.* 1993; 269 (22): 2853-9.
- <sup>249</sup>Feinberg MB. Changing the natural history of HIV disease. *Lancet.* 1996; 348: 239-46.
- <sup>250</sup>Levy JA. Infection by human immunodeficiency virus CD4 is not enough. *N Engl J Med.* 1996; 335 (20): 1528-30.
- <sup>251</sup>Winchester R, Chen Y, Rose S, et al. Major histocompatibility complex class II DR alleles DRB1\*1501 and those encoding HLA DR 13 are preferentially associated with a diminution in maternally transmitted human immunodeficiency virus 1 infection in different ethnic groups: determination by an automated sequence-based typing method. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92 (26): 12374-8.
- <sup>252</sup>Nielsen K, Boyer P, Dillon M, et al. Presence of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 and HIV-1 specific antibodies in cervicovaginal secretions of infected mothers and in the gastric aspirates of their infants. *J Infect Dis.* 1996; 173 (4): 1001-4.
- <sup>253</sup>Rasheed S, Li Z, Xu D, Kovacs A. Presence of cell-free human immunodeficiency virus in cervicovaginal secretions is independent of viral load in the blood of human immunodeficiency virus infected women. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175 (1): 122-9.
- <sup>254</sup>Fazely F, Sharma PL, Fratuzzi C, et al. Simian immunodeficiency virus infection via amniotic fluid: A model to study fetal immunopathogenesis and prophylaxis: *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1993; 6 (2): 107-114.
- <sup>255</sup>Miotti P, Yolken R, Canner J, et al. Mucosal factors and transmission of HIV from mother to infant: 1<sup>st</sup> National Conference on Human and Other Related Retroviruses, Washington, DC, USA, 12-16 January 1993. Abstract: 673.
- <sup>256</sup>Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, et al. Obstetrics factors and mother to child transmission of human immunodeficiency virus type 1: The French perinatal cohorts.

- SEROGEST French Pediatric HIV Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175 (3 Pt 1): 661-7.
- <sup>257</sup>Fowler MG. Update: transmission of HIV-1 from mother to child. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1997; 9 (6): 343-8.
- <sup>258</sup>Kind C, Rudin C, Siegrist CA, et al. Prevention of vertical HIV transmission: additive protective effect of elective Cesarean section and zidovudine prophylaxis. *Swiss Neonatal HIV Study Group. AIDS.* 1998; 12 (2): 205-10.
- <sup>259</sup>The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 a meta-analysis of 15 prospective cohort studies. *The International Perinatal HIV Group. N Engl J Med.* 1999; 340 (13): 977-87.
- <sup>260</sup>Dunn DT, Newell ML, Mayaux MJ, et al. Mode of delivery and vertical transmission of HIV-1: A review of prospective studies. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1994; 7: 1064-66.
- <sup>261</sup>Kawase K, Katamine S, Moriuchi R, et al. Maternal transmission of HTLV-1 other than through breast milk: discrepancy between the polymerase chain reaction positivity of cord blood samples for HTLV-1 and the subsequent seropositivity individuals. *JPN J Cancer Res.* 1992; 83 (9): 968-77.
- <sup>262</sup>de Martino M, Tovo PA, Tozzi AE, et al. HIV-1 transmission through breast milk: appraisal of risk according to duration of feeding. *AIDS.* 1992; 6 (9): 991-7.
- <sup>263</sup>Van de Perre P, Simonon A, Msellati P, et al. Postnatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. A prospective cohort study in Kigali, Rwanda. *N Engl J Med.* 1991; 325 (9): 593-8.
- <sup>264</sup>Ruff AJ, Coberly J, Halsey NA, et al. Prevalence of HIV-1 DNA and p24 antigen in breast milk and correlation with maternal factors. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1994; 7 (1): 68-73.
- <sup>265</sup>Guay LA, Hom DL, Mmiro F, et al. Detection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) DNA and p24 antigen in breast milk of HIV-1 infected Ugandan women and vertical transmission. *Pediatrics.* 1996; 98 (3 Pt 1): 438-44.
- <sup>266</sup>Van de Perre P, Simonon A, Hitimana DG, et al. Infective and anti-infective properties of breastmilk from HIV-1 infected women. *Lancet.* 1993; 341 (8850): 914-8.
- <sup>267</sup>Harmsen MC, Swart PJ, de Bethune MP, et al. Antiviral effects of plasma and milk proteins: Lactoferrin shows potent activity against both human immunodeficiency virus and human cytomegalovirus replication in vitro. *J Infect Dis.* 1995; 172 (2): 380-8.
- <sup>268</sup>Avila MM, Gazpio M, Liberatore D, et al. HIV-1 virus transmission through maternal milk. *Medicina (B Aires).* 2000; 60 (3): 302-4.
- <sup>269</sup>Sha BE, Benson CA, Potagge JC, et al. HIV infection in women: An observational study of clinical characteristics, disease progression and survival for a cohort of women in Chicago. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1995; 8 (5): 486-9.
- <sup>270</sup>Schultz TF, Boshoff CH, Weiss RA. HIV infection and neoplasia. *Lancet.* 1996; 348 (9027): 587-91.
- <sup>271</sup>Fleming PL, Ciesielski CA, Byers RH, et al. Gender differences in reported AIDS indicative diagnoses. *J Infect Dis.* 1993; 168 (1): 61-7.
- <sup>272</sup>Martin Suarez I, Aguayo Canela DM, Leon de Lope M, et al. Human immunodeficiency virus infection in women. *Ann Med Interna.* 1995; 12 (12): 576-83.
- <sup>273</sup>White MH. Is vulvovaginal candidiasis an AIDS related illness? *Clin Infect Dis.* 1996; 22 (suppl 2): S124-7.
- <sup>274</sup>Ellerbrock T, Wright T, Rice R, et al. Genital tract infections in HIV infected women. 1<sup>st</sup> HIV Infection Women Conference, Washington, DC, USA, 1995. Abstract.
- <sup>275</sup>Schuman P, Sobel JD, Ohmit SE, et al. Mucosal candidal colonization and candidiasis in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. *HIV Epidemiology Research Study (HERS) Group. Clin Infect Dis.* 1998; 27 (5): 1161-7.

- <sup>276</sup>Chirgwin KD, Feldman J, Muneyyirci-Delale O, et al. Menstrual function in human immunodeficiency virus infected women without acquired immunodeficiency syndrome. *J Acquir Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1996; 12 (5): 489-94.
- <sup>277</sup>Gaidano G, Dalla-Favera R: Molecular pathogenesis of AIDS related lymphomas. *Adv Cancer Res.* 1995; 67: 113.
- <sup>278</sup>Getahun Y, Brown G. Reducing the rate of mother-to-child HIV transmission in Africa. *ABNF J.* 2001; 12 (3): 63-6.
- <sup>279</sup>Rabkin CS, Biggar RJ, Baptiste MS, et al. Cancer incidence trends in women at high risk of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Int J Cancer.* 1993; 55 (2): 208-12.
- <sup>280</sup>Beral V, Peterman TA, Berkelman RL, Jaffe HW. Kaposi's sarcoma among persons with AIDS: a sexually transmitted infection?. *Lancet.* 1990; 335 (8682): 123-8.
- <sup>281</sup>Rabkin CS, Chibwe G, Muyunda K, Musaba E. Kaposi's Sarcoma in pregnant women. *Nature.* 1995; 377: 21.
- <sup>282</sup>Simpson GR, Schulz TF, Whitby D, et al. Prevalence of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen. *Lancet.* 1996; 348: 1133-8.
- <sup>283</sup>Cote TR, Manns A, Hardy CR, et al. Epidemiology of brain lymphoma among people with or without acquired immunodeficiency syndrome. *AIDS/Cancer Study Grup. J Natl Cancer Inst.* 1996; 88 (10): 675-9.
- <sup>284</sup>Hooper WC, Holman RC, Clarke MJ, Chorba TL. Trends in non-Hodgkin lymphoma (NHL) and HIV-associated NHL deaths in the United States. *Am J Hematol.* 2001; 66 (3): 159-66.
- <sup>285</sup>Vermund SH, Melnick SL. Human papillomavirus infection. En: Minkoff HL, DeHovitz JA, Duerr A, eds. *HIV Infection in Women.* New York: Raven Press, 1995; 189-227.
- <sup>286</sup>Conti M. Prevalence and risk of progression of genital intraepithelial neoplasias in women with human immunodeficiency virus infection. *Gynecol Obstet Res.* 1991; 3: 283.
- <sup>287</sup>Maiman M, Fruchter RG, Serur E, et al. Recurrent cervical intraepithelial neoplasia in human immunodeficiency virus seropositive women. *Obstet Gynecol.* 1993; 82 (2): 170-4.
- <sup>288</sup>Wright TC, Ellerbrock TV, Chaisson MA, et al. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: Prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. *New York Cervical Disease Study. Obstet Gynecol.* 1994; 84 (4): 591-7.
- <sup>289</sup>Flanigan TP, Imam N, Lange N, et al. Decline of CD4 lymphocyte counts from the time of seroconversion in HIV positive women. *J Women Health.* 1992; 14: 1365.
- <sup>290</sup>Melnick SL, Sherer R, Louis TA, et al. Survival and disease progression according to gender of patients with HIV infection. The Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *JAMA.* 1994; 272 (24): 1915-21.
- <sup>291</sup>Cozzi Lepri A, Pezzotti P, Dorrucci M, et al. HIV disease progression in 854 women and men infected through injecting drug use and heterosexual sex and followed for up to nine years from seroconversion. *Italian Seroconversion Study. BMJ.* 1994; 309 (6968): 1537-42.
- <sup>292</sup>Vella S, Giuliano M, Floridia M, et al. Effect of sex, age and transmission category on the progression to AIDS and survival of zidovudine treated symptomatic patients. *AIDS.* 1995; 9 (1): 51-6.
- <sup>293</sup>Temmerman M, Plummer FA, Mirza NB, et al. Infection with HIV as a risk factor for adverse obstetrical outcome. *AIDS.* 1990; 4 (11): 1087-93.
- <sup>294</sup>Xu JY, Gorny M, Zolla-Pazner S. An immune dot-blot assay for the detection of antibody to HIV. *J Immunol Methods.* 1989; 120 (2): 179-83.
- <sup>295</sup>Gray RH, Wawer MJ, Sewadha D, et al. Population based study of fertility in women with HIV-1 infection in Uganda. *Lancet.* 1998; 351 (9096): 98-103.

- <sup>296</sup>Kreiss J, Willerford D, Hensel M, et al. Association between cervical inflammation and cervical shedding of HIV DNA. *J Infect Dis.* 1994; 170 (6): 1597-601.
- <sup>297</sup>Hart C, Palmore M, Wright T, et al. Correlation of cell-free and cell-associated HIV RNA levels in plasma and vaginal secretions. Proceedings of the 4<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Washington, DC, USA, 22-26 January 1997. Abstract: 69.
- <sup>298</sup>Johnstone FD, Willox L, Brettle RP. Survival time after AIDS in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992; 99 (8): 633-6.
- <sup>299</sup>Centers for Disease Control and Prevention. Prevention acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): Reor of interagency recommendations. *MMWR.* 1984; 32: 101-3.
- <sup>300</sup>Centers for Disease Control and Prevention: Provisional Public Health Service Interagency recommendations for screening donated blood and plasma for antibody to the virus causing acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR.* 1985; 34: 1-5.
- <sup>301</sup>Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for assisting in the prevention of perinatal transmission of human T-Lymphotropic virus Type III/lymphadenopathy associated virus and acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR.* 1985; 34: 721-6, 731-733.
- <sup>302</sup>Centers for Disease Control and Prevention. Additional recommendations reduce sexual and drug abuse related transmission of human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy associated virus. *MMWR.* 1986; 35: 152-5.
- <sup>303</sup>Centers for Disease Control and Prevention. Perspectives in disease prevention and health promotion: Public Health Service guideliness for counseling and antibody testing to prevent HIV infection and AIDS. *MMWR.* 1987; 36: 509-15.
- <sup>304</sup>Weiss SH, Goedert JJ, Sarngadharan MG et al. Screening test for HTLV III (AIDS agent) antibodies: specificity, sensitivity, and applications. *JAMA.* 1985; 253 (2): 221-5.
- <sup>305</sup>Wang JJ, Steel S, Wisniewolski R, Wang CY. Detection of antibodies to human T lymphotropic virus tpe III by using a synthetic peptide of 21 amino acid residues corresponding to a highly antigenic segment of gp41 envelope protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986; 83 (16): 6159-63.
- <sup>306</sup>Allain JP, Laurian Y, Paul DA, Senn D. Serological markers in early stages of human immunodeficiency virus infection in haemophiliacs. *Lancet.* 1986; 2 (8518): 1233-6.
- <sup>307</sup>Pyun KH, Ochs HD, Dufford MTW, Wedgwood RJ. Perinatal infection with human immunodeficiency virus. *N Engl J Med.* 1987; 317 (10): 611-4.
- <sup>308</sup>Pizzo PA, Wilfert CM. Perspectives on pediatric human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1991; 10: 523-31.
- <sup>309</sup>Horsburgh CR Jr, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet.* 1989; 2 (8664): 637-40.
- <sup>310</sup>Pan LZ, Cheng-Mayer C, Levy JA. Patterns of antibody response in individuals infected with the human immunodeficiency virus. *J Infect Dis.* 1987; 155 (4): 626-32.
- <sup>311</sup>Constantine NT. Serologic tests for the retroviruses: Approaching a decade of evolution. *AIDS.* 1993; 7: 1-13.
- <sup>312</sup>Ozanne G, Fauvel M. Performance and reliability of five commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits in screening for anti human immunodeficiency virus antibody in high risk subjects. *J Clin Microbiol* 1988; 26 (8): 1496-500.
- <sup>313</sup>Weber B, Fall EHM, Berger A, Doerr HW. Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. *J Clin Microbiol.* 1998; 36 (8): 2235-9.
- <sup>314</sup>Ly TD, Edlinger C, Vabret A, et al. Contribution of combined detection assays of p24 antigen and anti-human immunodeficiency virus (HIV) antibodies in diagnosis of primary HIV infection by routine testing. *J Clin Microbiol.* 2000; 38 (6): 2459-60.

- <sup>315</sup>Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL, et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor. *N Engl J Med.* 1990; 326 (11): 726-32.
- <sup>316</sup>Kemp BE, Rylatt DB, Bundesen PG, et al. Autologous red cell agglutination assay for HIV-1 antibodies: simplified test with whole blood. *Science.* 1988; 241 (4871): 1352-4.
- <sup>317</sup>Guèye-Ndiaye A, Clark RJ, Samuel KP, et al. Cost effective diagnosis of HIV-1 and HIV-2 by recombinant expressed env peptide (566/996) dot-blot analysis. *AIDS.* 1993; 7 (4): 475-81.
- <sup>318</sup>McAlpine L, Parry JV, Tosswill JH. Evaluation of an enzyme immunoassay for the combined detection of antibodies to HIV-1, HIV-2, HTLV-I and HTLV-II. *AIDS.* 1992; 6 (4): 387-91.
- <sup>319</sup>O'Brien T, George J, Holmberg S. HIV type 2 infection in the United States: epidemiology, diagnosis, and public health implications. *JAMA.* 1992; 6: 387-91.
- <sup>320</sup>Centers for Disease Control and Prevention Interpretation and use of the Western blot assay for serodiagnosis of HIV-1 infections. *MMWR.* 1989; 38 (suppl.7): 1-11.
- <sup>321</sup>WHO. AIDS: proposed WHO criterion for interpreting results from Western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. *Wkly Epidemiol Rec.* 1990; 37: 281-8.
- <sup>322</sup>Mortimer PP. The fallibility of HIV Western blot. *Lancet.* 1991; 337: 286-7.
- <sup>323</sup>Soriano V, Concheiro Carro L, Gutierrez M, et al. Evaluación de los diferentes criterios de interpretación del Western Blot para el diagnóstico de la infección por VIH. Grupo Español para el estudio del VIH-2. *Med Clin (Barc).* 1993; 100 (13): 561-6.
- <sup>324</sup>Brooks J, MacDonald K, Cadwell J. Absence of HIV infection in blood donors with indeterminate Western blot tests for antibody to HIV-1. *N Engl J Med.* 1990; 322: 217-22.
- <sup>325</sup>Weber B, Hess G, Enzensberger R, et al. Multicenter evaluation of the novel ABN Western blot (immunoblot) system in comparison with an ELISA and different Western Blot. *J Clin Microbiol.* 1992; 30 (3): 691-7.
- <sup>326</sup>Myers RA, Patel JD, Joseph JM. Identifying HIV-2 seropositive individuals by reevaluating HIV-1 indeterminate sera. *J Acquir Immun Defic Synd.* 1992; 5 (4): 417-23.
- <sup>327</sup>Soriano V, Gutierrez M, Gazapo E, et al. HIV-2 infection in high risk individuals with indeterminate HIV-1 Western blot analysis: a serologic surveillance. *Vox Sang.* 1992; 62 (4): 244-5.
- <sup>328</sup>Soriano V, Tor J, Ribera A, Muga R. Synthetic peptide immunoassay in diagnosis of primary HIV infection. *Vox Sang.* 1990; 58: 228-30.
- <sup>329</sup>Christiansen C, Wantzin P, Shao J, et al. High prevalence of indeterminate Western blot tests for antibodies to HIV-1 in Tanzania. *AIDS.* 1990; 4: 1039-40.
- <sup>330</sup>Downie JC, Howard R, Bowcock B, Cunningham AL. HIV-1 antibody testing strategy: evaluation of ELISA screening and Western blot profiles in a mixed low risk – high risk patient population. *J Virol Methods.* 1989; 26 (3): 291-303.
- <sup>331</sup>Fransen K, Pollet DE, Peeters M, et al. Evaluation of a line immunoassay for simultaneous confirmation of antibodies to HIV-1 and HIV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1991; 10 (11): 939-46.
- <sup>332</sup>Brattegaard K, Kouadio J, Adom M, et al. Rapid and simple screening and supplemental testing for HIV-1 and HIV-2 infections in West Africa. *AIDS.* 1993; 7: 883-5.
- <sup>333</sup>Wittek AE, Phelan MA, Wells MA, et al. Detection of HIV core protein in plasma by EIA. Association of antigenemia with symptomatic disease and T helper cell depletion. *Ann Intern Med.* 1987; 107 (3): 286-92.
- <sup>334</sup>Chaisson RE, Fuchs E, Stanton DL, et al. Racial heterogeneity of HIV antigenemia in people with HIV infection. *AIDS.* 1991; 5 (2): 177-80.
- <sup>335</sup>Chaisson RE, Allain JP, Volberding PA. Significant changes in HIV antigen level in

- the serum of patients treated with AZT. *N Engl J Med.* 1986; 315 (25): 1610-11.
- <sup>336</sup>Claydon E, Bennet J, Gor D, Forster S. Transient elevation of serum HIV antigen levels associated with intercurrent infection. *AIDS.* 1991; 5: 113-4.
- <sup>337</sup>Mathiesen T, Sundqvist VA, Albert J, et al. Acid hydrolysis of serum samples to increase detection of HIV antigen. *J Virol Methods.* 1988; 22 (2-3): 143-8.
- <sup>338</sup>Levy J, Shiamabukuro J. Recovery of AIDS associated retroviruses from patients with AIDS or AIDS related conditions and from clinically healthy individuals. *J Infect Dis.* 1985; 152 (4): 734-8.
- <sup>339</sup>Sundqvist VA, Albert J, Ohlsson E, et al. HIV type 1 p24 production and antigenic variation in tissue culture of isolates with various growth characteristics. *J Med Virol.* 1989; 29 (3): 170-5.
- <sup>340</sup>Hoffman AD, Banapour B, Levy JA. Characterization of the AIDS associated retrovirus reverse transcriptase and optimal conditions for its detection in virions. *Virology.* 1985; 147 (2): 326-35.
- <sup>341</sup>Kwok S, Mack D, Mullis K, et al. Identification of HIV sequences by using in vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *J Virology.* 1987; 61: 1690-4.
- <sup>342</sup>Escaich S, Wallon M, Baginski I, et al. Comparison of HIV detection by virus isolation in lymphocyte cultures and molecular amplification of HIV DNA and RNA by PCR in offspring of seropositive mothers. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1991; 4 (2): 130-5.
- <sup>343</sup>Imagawa DT, Lee MH, Wolinsky SM, et al. HIV type 1 infection in homosexual men who remain seronegative for prolonged periods. *N Engl J Med.* 1989; 320 (22): 1458-62.
- <sup>344</sup>Fisher AG, Ensoli B, Looney D, et al. Biologically diverse molecular variants within a single HIV-1 isolate. *Nature.* 1988; 334 (6181): 444-7.
- <sup>345</sup>Boucher CA, Tersmette M, Lange JMA, et al. Zidovudine sensitivity of HIV from high risk, symptom free individuals during therapy. *Lancet.* 1990; 336: 585-90.
- <sup>346</sup>Von Briesen H, Becker WB, Henco K, et al. Isolation frequency and growth properties of HIV variants: multiple simultaneous variants in a patient demonstrated by molecular cloning. *J Med Virol.* 1987; 23 (1): 51-66.
- <sup>347</sup>Schnittman SM, Psallidopoulos MC, Lance HC, et al. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science.* 1989; 245: 305-8.
- <sup>348</sup>Guyer R, Koshland D. The molecule of the year. *Science.* 1989; 246: 1543-7.
- <sup>349</sup>Ou CY, Kwok S, Mitchell SW, et al. DNA amplification for direct detection of HIV-1 in DNA of PBMC. *Science.* 1988; 239 (4837): 295-7.
- <sup>350</sup>Herrera MI, Santa María I, De Andrés R, Nájera R. Localization of HIV antigens in infected cells by scanning/transmission immunogold techniques. *Ultrastruct Pathol.* 1988; 12 (4): 439-47.
- <sup>351</sup>Young KK, Peter JB, Winters RE. Detection of HIV DNA in peripheral blood by the PCR: a study of clinical applicability and performance. *AIDS.* 1990; 4 (5): 389-91.
- <sup>352</sup>Landay A, Kessler HA, Benson CA, et al. Isolation of HIV-1 from monocytes of individuals negative by conventional culture. *J Infect Dis.* 1990; 161 (4): 706-10.
- <sup>353</sup>Pardue ML, Goll JG. Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1969; 64: 600-4.
- <sup>354</sup>John HA, Birmstiel ML, Jones KW. RNA-DNA hybrids at the cytological level. *Nature.* 1969; 223: 582-7.
- <sup>355</sup>Coghlan JP, Aldred P, Haralambridis J, et al. Hybridization histochemistry. *Anal Biochem.* 1985; 149 (1): 1-28.
- <sup>356</sup>Guatelli JC, Gingeras TR, Richman DD. Nucleic acid amplification in vitro: Detection of sequences with low copy numbers and application to diagnosis of human

- immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Microbiol Rev.* 1989; 2 (2): 217-26.
- <sup>357</sup>Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, et al. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science.* 1988; 239: 487-91.
- <sup>358</sup>Muul L. Current Status of PCR assays in clinical research on HIV infection. *AIDS Updates.* 1990; 3: 1-19.
- <sup>359</sup>Rayfield M, De Cock K, Heyward W, et al. Mixed HIV infection in an individual: demonstration of both HIV type 1 and type 2 proviral sequences by using PCR. *J Infect Dis.* 1988; 158 (6): 1170-6.
- <sup>360</sup>Pahwa R, Good R, Pahwa S. Prematurity, hypogammaglobulinemia, and neuropathology with human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987; 84 (11): 3826-30.
- <sup>361</sup>Bednarik DP, Folks TM. Mechanisms of HIV-1 latency. *AIDS.* 1992; 6 (1): 3-16.
- <sup>362</sup>Farzadegan H, Polis MA, Wolinsky SM, et al. Loss of HIV-1 antibodies with evidence of viral infection in asymptomatic homosexual men. A report from the Multicenter AIDS Cohort Study. *Ann Intern Med.* 1988; 108 (6): 785-90.
- <sup>363</sup>Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex: A double blind, placebo controlled trial. *N Engl J Med.* 1987; 317 (4): 185-91.
- <sup>364</sup>Concorde Coordinating Committee. Concorde: MRC/ANRS randomised double blind controlled trial of immediate and deferred ZDV in symptom free HIV infection. *Lancet.* 1994; 343: 871-8.
- <sup>365</sup>Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, et al. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. *N Engl J Med.* 1996; 335 (15): 1081-90.
- <sup>366</sup>Delta Coordinating Committee. Delta: A randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV infected individuals. *Lancet.* 1996; 348: 283-91.
- <sup>367</sup>Corey L, Holmes KK. Therapy for human immunodeficiency virus infection- What have we learned?. *N Engl J Med.* 1996; 335 (15): 1142-3.
- <sup>368</sup>Carpenter CCJ, Fischl MA, Hammer SM, et al. Antiretroviral therapy for HIV infection in 1996. Recommendations of an International Panel. *JAMA.* 1996; 276 (2): 146-54.
- <sup>369</sup>Ho DD. Viral counts count in HIV infection. *Science.* 1996; 272: 1124-5.
- <sup>370</sup>Mac Donald L, Kanzanjian P. Antiretroviral therapy in HIV infection: an update. *Formulary.* 1996; 780-804.
- <sup>371</sup>Ramratnam B, Mittler JE, Zhang L, et al. The decay of the latent reservoir of replication competent HIV-1 is inversely correlated with the extent of residual viral replication during prolonged antiretroviral therapy. *Nat Med.* 2000; 6 (1): 82-5.
- <sup>372</sup>Sande MA, Carpenter CCJ, Coombs CG, et al. Antiretroviral therapy for adult HIV infected patients. Recommendations from a state of the art conference. *JAMA.* 1993; 270 (21): 2583-89.
- <sup>373</sup>Richman DD. Clinical significance of drug resistance in human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 1995; 21 (suppl 2): S166-9.
- <sup>374</sup>Fischl MA, Parker CB, Pettinelli C, et al. A randomized controlled trial of reduced daily dose of ZDV in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: The AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med.* 1990; 323 (15): 1009-14.
- <sup>375</sup>Ayers KM, Clive D, Tucker WE, et al. Nonclinical toxicology studies with zidovudine: genetic toxicity tests and carcinogenicity bioassays in mice and rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1996; 32 (2): 148-58.
- <sup>376</sup>Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med.* 1994; 331 (18): 1173-80.

- <sup>377</sup>Ayers KM. Preclinical toxicology of zidovudine: An overview. *Am J Med.* 1988; 85 (suppl 2 A): 186-8.
- <sup>378</sup>Toltzis P, Mourton T, Magnuson T. Effect of zidovudine on preimplantation murine embryos. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37 (8): 1610-13.
- <sup>379</sup>Toltzis P, Marx CM, Kleinman N, et al. Zidovudine associated embryonic toxicity in mice. *J Infect Dis.* 1991; 163 (6): 1212-8.
- <sup>380</sup>Ha JC, Nosbisch C, Abkowitz JL, et al. Fetal, infant, and maternal toxicity of zidovudine (azidothymidine) administered throughout pregnancy in *Macaca nemestrina*. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1998; 18 (1): 27-38.
- <sup>381</sup>Comprehensive information for investigators: retrovir (July 1993). Available from Burroughs Wellcome Company, Research Triangle Park, NC.
- <sup>382</sup>Centers for Disease Control and Prevention: Birth outcomes following zidovudine therapy in pregnant women. *MMWR.* 1994; 43 (409): 415-6.
- <sup>383</sup>Sandberg JA, Slikker W Jr. Developmental pharmacology and toxicology of anti-HIV therapeutic agents: dideoxynucleosides. *FASEB J.* 1995; 9 (12): 1157-63.
- <sup>384</sup>Schindzielorz A, Pike I, Daniels M, et al. Rates and risk factors for adverse events associated with didanosine in the expanded access program. *Clin Infect Dis.* 1994; 19 (6): 1076-83.
- <sup>385</sup>Moyle GJ, Sadler M. Peripheral neuropathy with nucleoside antiretrovirals: risk factors, incidence and management. *Drug Saf.* 1998; 19 (6): 481-94.
- <sup>386</sup>Brivet FG, Naveau SH, Lemaigre GF, Dormont J. Pancreatic lesions in HIV infected patients. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1994; 8 (4): 859-77.
- <sup>387</sup>Dolin R, Amato DA, Fischl MA, et al. Zidovudine compared with didanosine in patients with advanced HIV type 1 infection and little or no previous experience with zidovudine. *AIDS Clinical Trials Group. Arch Intern Med.* 1995; 155 (9): 961-74.
- <sup>388</sup>Spruance SL, Pavia AT, Peterson D, et al. Didanosine compared with continuation of zidovudine in HIV infected patients with signs of clinical deterioration while receiving zidovudine. A randomized, double blind clinical trial. The Bristol Myers Squibb AI454-010 Study Group. *Ann Intern Med.* 1994; 120 (5): 360-8.
- <sup>389</sup>Pons JC, Boubon MC, Taburet AM, et al. Fetoplacental passage of 2',3' dideoxyinosine. *Lancet.* 1991; 337: 732.
- <sup>390</sup>Meng TC, Fischl MA, Boota AM, et al. Combination therapy with zidovudine and dideoxycytidine in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. A phase I/II study. *Ann Intern Med.* 1992; 116 (1): 13-20.
- <sup>391</sup>Silkker W Jr, Lipe G, Ali S, et al. Placental transfer and fetal distribution of H-ddC in the Monkey. *Teratology.* 1992; 45: 457-8.
- <sup>392</sup>Lindstrom P, Harris M, Hoberman AM, et al. Developmental toxicity of orally administered 2',3' dideoxycytidine (DDC) in mice. *Teratology.* 1990; 42 (2): 131-6.
- <sup>393</sup>Foerster M, Kastner U, Neubert R. Effect of six virustatic nucleosides analogues on the development of fetal rat thymus in organ culture. *Arch Toxicol.* 1992; 66 (10): 688-99.
- <sup>394</sup>Murray HW, Squires KE, Weiss W, et al. Stavudine in patients with AIDS and AIDS related complex: AIDS clinical trials group 089. *J Infect Dis.* 1995; 171 (suppl 2): S123-30.
- <sup>395</sup>Lin PF, Samanta H, Rose RE, et al. Genotypic and phenotypic analysis of human immunodeficiency virus type 1 isolates from patients on prolonged stavudine therapy. *J Infect Dis.* 1994; 170 (5): 1157-64.
- <sup>396</sup>Pollard RB, Peterson D, Hardy D, et al. Safety and antiretroviral effects of combined didanosine and stavudine therapy in HIV infected individuals with CD4 counts of 200 to 500 cells/mm<sup>3</sup>. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1999; 22 (1): 39-48.
- <sup>397</sup>Toltzis P, Mourton T, Magnuson T. Comparative embryonic cytotoxicity of antiretroviral nucleosides. *J Infect Dis.* 1994; 169 (5): 1100-2.

- <sup>398</sup>Merril DP, Moonis M, Chou TC, Hirsch MS. Lamivudine or stavudine in 2 and 3 drug combinations against human immunodeficiency virus type 1 replication in vitro. *J Infect Dis.* 1996; 173 (2): 355-64.
- <sup>399</sup>Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, et al. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med.* 1995; 333 (25): 1657-61.
- <sup>400</sup>Van Leeuwen R, Katlama C, Kitchen V, et al. Evaluation of safety and efficacy of 3TC (lamivudine) in patients with asymptomatic or mildly symptomatic human immunodeficiency virus infection: a phase I/II study. *J Infect Dis.* 1995; 171 (5): 1166-71.
- <sup>401</sup>Moodley J, Moodley D, Pillay K, et al. Pharmacokinetics and antiretroviral activity of lamivudine alone or when coadministered with zidovudine in human immunodeficiency virus type 1 infected pregnant women and their offspring. *J Infect Dis.* 1998; 178 (5): 1327-33.
- <sup>402</sup>Johnson M, Goodwin C, Yuen G, et al. The pharmacokinetics of 3TC administered to HIV infected women (prepartum, during labor, and postpartum) and their offspring. 11<sup>th</sup> International Conference on AIDS, Vancouver, BC, Canada, July 7-12 1996. Abstract: Tu.C. 445.
- <sup>403</sup>Gangar M, Arias G, O'Brien JG, Kemper CA. Frequency of cutaneous reactions on rechallenge with nevirapine and delavirdine. *Ann Pharmacother.* 2000; 34 (7-8): 839-42.
- <sup>404</sup>Mirochnick M, Fenton T, Gagnier P, et al. Pharmacokinetics of nevirapine in human immunodeficiency virus type 1 infected pregnant women and their neonates. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 250 Team. *J Infect Dis.* 1998; 178 (2): 368-74.
- <sup>405</sup>Public Health Service Task Force Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1 Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV-1 Transmission in the United States. Perinatal HIV Guidelines Working Group Members. 24 January, 2001.
- <sup>406</sup>FDA approval of the first HIV anti-retroviral from DuPont-Pharma: SUSTIVA (efavirenz). SUSTIVA should be associated with other anti-retrovirals and could be considered a new alternative first line treatment. *Aller-Immunol Paris.* 1998; 30 (8): 268-70.
- <sup>407</sup>Ezzel C. Emergence of the protease inhibitors. A better class of AIDS drugs? *J NIH Res.* 1996; 8: 41-5.
- <sup>408</sup>FDA Public Health Advisory: Reports of diabetes and hyperglycemia in patients receiving protease inhibitors for the treatment of human immunodeficiency virus (HIV). *JAMA.* 1992; 278: 379.
- <sup>409</sup>Deeks SG, Smith M, Holodniy M, et al. HIV-1 protease inhibitors. *JAMA.* 1997; 277 (2): 145-53.
- <sup>410</sup>Danner SA, Carr A, Leonard JM, et al. A short term study of safety, pharmacokinetics, and efficacy of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease. *N Engl J Med.* 1995; 333 (23): 1528-33.
- <sup>411</sup>Cameron B, Heath-Chiozzi M, Kravick S, et al. Prolongation of life and prevention of AIDS in advanced immunodeficiency with ritonavir. 3<sup>rd</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Washington, DC, USA, 28 January 1996. Abstract: Mo. B. 411.
- <sup>412</sup>Lorenzi P, Spicher VM, Laubereau B, et al. Antiretroviral therapies in pregnancy: maternal, fetal and neonatal effects. Swiss HIV Cohort Study, the Swiss Collaborative HIV and Pregnancy Study, and the Swiss Neonatal HIV Study. *AIDS.* 1998; 12 (18): F241-7.
- <sup>413</sup>Massari F, Conant M, Mellors J, et al. A phase II open label, randomized study of the triple combination of indinavir, zidovudine, and zidovudine/didanosine in antiretroviral naive patients. 3<sup>rd</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Washington, DC, 28 January-1 February 1996. Abstract.
- <sup>414</sup>Gulick RM, Mellors JW, Havlir D, et al. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 1997; 337 (11): 734-9.
- <sup>415</sup>Riecke K, Schulz TG, Shakibaei M, et al. Developmental toxicity of the HIV-protease

- inhibitor indinavir in rats. *Teratology*. 2000; 62 (5): 291-300.
- <sup>416</sup>Minkoff H, Augenbraun M. Antiretroviral therapy for pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 176 (2): 478-89.
- <sup>417</sup>Mills JL. Protecting the embryo from X rated drugs. *N Engl J Med*. 1995; 333 (2): 124-5.
- <sup>418</sup>Centers for Disease Control and Prevention. Pregnancy outcomes following systemic prenatal acyclovir exposure. June 1, 1984- June 30, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1993; 42 (41): 806-9.
- <sup>419</sup>Center for Disease Control and Prevention. Public Health Service Task Force on Use of Zidovudine to Reduce Perinatal Transmission of Human Immunodeficiency Virus. *MMWR*. 1994; 43 (RR-11): 1-21.
- <sup>420</sup>Cooper ER, Nugent RP, Diaz C, et al. After AIDS clinical trial 076: The Changing pattern of zidovudine use during pregnancy, and the subsequent reduction in the vertical transmission of human immunodeficiency virus in a cohort of infected women and their infants. Women and Infants Transmission Study Group. *J Infect Dis*. 1996; 174 (6): 1207- 1211.
- <sup>421</sup>Qian M, Bui T, Ho RJ, Unadkat JD. Metabolism of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) in human placental trophoblasts and Hofbauer cells. *Biochem Pharmacol*. 1994; 48 (2): 383-389.
- <sup>422</sup>Dancis J, Lee JD, Mendoza S, Liebes L. Transfer and metabolism of dideoxyinosine by the perfused human placenta. *J AIDS*. 1993; 6 (1): 2-6.
- <sup>423</sup>Barry MG, Khoo SH, Veal GJ, et al. The effect of zidovudine dose on the formation of intracellular phosphorylated metabolites. *AIDS*. 1996; 10 (12): 1361-7.
- <sup>424</sup>Mulder JW, Cooper DA, Mathiesen L, et al. Zidovudine twice daily in asymptomatic subjects with HIV infection and a high risk of progression to AIDS: a randomized, double-blind, placebo controlled study. The European-Australian Collaborative Group (Study 017). *AIDS*. 1994; 8 (3): 313-21.
- <sup>425</sup>Cooper DA, Gatell JM, Kroon S, et al. Zidovudine in persons with asymptomatic HIV infection and CD4+ cell counts greater than 400 per cubic millimeter. *N Engl J Med*. 1993; 329 (5): 297-303.
- <sup>426</sup>O'Sullivan MJ, Boyer PJ, Scott GB, et al. The pharmacokinetics and safety of zidovudine in the third trimester of pregnancy for women infected with human immunodeficiency virus and their infants: Phase I ACTG study (protocol 082). Zidovudine Collaborative Working Group. *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 168 (5): 1510-6.
- <sup>427</sup>Boucher FD, Modlin JF, Weller S, et al. Phase I evaluation of zidovudine administered to infants exposed at birth to the human immunodeficiency virus. *J Pediatr*. 1993; 122 (1): 137-44.
- <sup>428</sup>Mirochnick MH, Capparelli E, Dankner W. Zidovudine pharmacokinetics in premature infants exposed to HIV. *Antimicrob Agents Chemoter*. 1998; 42 (4): 808-12.
- <sup>429</sup>Eastman PS, Shapiro DE, Coombs RW, et al. Maternal viral genotypic zidovudine resistance and infrequent failure of zidovudine therapy to prevent perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 in pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076. *J Infect Dis*. 1998; 177 (3): 557-64.
- <sup>430</sup>Welles SL, Pitt J, Colgrove R, et al. HIV-1 genotypic zidovudine drug resistance and the risk of maternal infant transmission in the women and infants transmission study. *AIDS*. 2000; 14 (38): 263-71.
- <sup>431</sup>Kully C, Yerly S, Erb P, et al. Codon 215 mutations in human immunodeficiency virus infected pregnant women. Swiss Collaborative 'HIV and Pregnancy' Study. *J Infect Dis*. 1999; 179 (3): 705-8.
- <sup>432</sup>Centers for Disease Control and Prevention. U.S. Public Health Service recommendations for human immunodeficiency virus counseling and voluntary testing form pregnant women. *MMWR*. 1995; 44 (RR-7): 1-14.
- <sup>433</sup>De Santis M, Noia G, Caruso A, Mancuso S. Guidelines for the use of zidovudine in pregnant women with HIV infection. *Drugs*. 1995; 50 (1): 43-7.

- <sup>434</sup>Sperling RS, Shapiro DE, McSherry GD. Et al. Safety of the maternal infant zidovudine regimen utilized in the Pediatric AIDS Clinical Trial Group 076 Study. *AIDS*. 1998; 12 (14): 1805-13.
- <sup>435</sup>Hanson IC, Antonelli TA, Sperling RS, et al. Lack of tumors in infants with perinatal HIV-1 exposure and fetal/neonatal exposure to zidovudine. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1999; 20 (5): 463-7.
- <sup>436</sup>Bardeguet A, Spino C. Interim analysis PACTG 288. Workshop on Antiretroviral Therapy to Reduce the Risk of Perinatal Transmission, Herson, Virginia, 9 May 1997.
- <sup>437</sup>Stiehm ER, Lambert JS, Mofenson LM, et al. Efficacy of zidovudine and human immunodeficiency virus (HIV) hyperimmune immunoglobulin for reducing perinatal HIV transmission from HIV infected women with advanced disease: results of Pediatrics AIDS Clinical Trials Group Protocol 185. *J Infect Dis*. 1999; 179 (3): 567-75.
- <sup>438</sup>Simpson BJ, Shapiro ED, Andiman WA. Reduction in the risk of vertical transmission of HIV-1 associated with treatment of pregnant women with orally administered zidovudine alone. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997; 14 (2): 145-52.
- <sup>439</sup>Fiscus SA, Adimora AA, Schoenbach VJ, et al. Trends in human immunodeficiency virus (HIV) counseling, testing, and antiretroviral treatment of HIV infected women and perinatal transmission in North Carolina. *J Infect Dis*. 1999; 180 (1): 99-105.
- <sup>440</sup>Cao Y, Krogstad P, Korber BT, et al. Maternal HIV-1 viral load and vertical transmission of infection: The Ariel Project for prevention of HIV transmission from mother to infant. *Nat Med*. 1997; 3 (5): 549-52.
- <sup>441</sup>Ruiz L, Romeu J, Clotet B et al. Quantitative HIV-1 RNA as a marker of clinical stability and survival in a cohort of 302 patients with a mean CD4 cell count of 300 x 10<sup>6</sup>/l. *AIDS*. 1996; 10 (11): F39-44.
- <sup>442</sup>O'Shea S, Newell ML, Dunn DT, et al. Maternal viral load, CD4 cell count and vertical transmission of HIV-1. *J Med Virol*. 1998; 54 (2): 113-7.
- <sup>443</sup>Mayaux MJ, Dussaix E, Isopet J, et al. Maternal virus load during pregnancy and mother-to child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohort studies. SEROGEST Cohort Group. *J Infect Dis*. 1997; 175 (1): 172-5.
- <sup>444</sup>Thea DM, Steketee RW, Pliner V, et al. The effect of maternal viral load on the risk of perinatal transmission of HIV-1. *AIDS*. 1997; 11 (4): 437-44.
- <sup>445</sup>Melvin AJ, Burchett SK, Watts DH, et al. Effect of pregnancy and zidovudine therapy on viral load in HIV-1 infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997; 14 (3): 232-6.
- <sup>446</sup>Sperling R, Straton P, O'Sullivan MJ, et al. A survey of zidovudine use in pregnant women with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1992; 326 (13): 857-61.
- <sup>447</sup>Center for Disease Control. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents. *MMWR*. 1998; 47 (RR-5): 39-82.
- <sup>448</sup>Martin R, Boyer P, Hammill H, et al. Incidence of premature birth and neonatal respiratory disease in infants of HIV positive mothers. The Pediatric Pulmonary and Cardiovascular Complications of Vertically Transmitted Human Immunodeficiency Virus Infection Study Group. *J Pediatr*. 1997; 131 (6): 851-6.
- <sup>449</sup>Leroy V, Ladner J, Nyiraziraje M, et al. Effect of HIV-1 infection on pregnancy outcome in women in Kigali, Rwanda, 1992-1994. Pregnancy and HIV Study Group. *AIDS*. 1998; 12 (6): 643-50.
- <sup>450</sup>Boxwell DE, Styrt BA. Lactic acidosis (LA) in patients receiving nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). 39<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, USA, 26-29 September 1999. Abstract: 1284.
- <sup>451</sup>Luzzati R, del Bravo P, di Perri G, et al. Riboflavine and severe lactic acidosis. *Lancet*. 1999; 353: 901-2.
- <sup>452</sup>Saba J on behalf of the PETRA Trial Study Team. Interim analysis of early efficacy of three short ZDV/3TC combination regimens

- to prevent mother to child transmission of HIV-1: the PETRA trial. 6<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, USA, January 1999. Abstract: S-7.
- <sup>453</sup>Moodley D. The SAINT Trial: nevirapine (NVP) verusu zidovudine (ZDV) + lamivudine (3TC) in prevention of peripartum HIV transmission. 13<sup>th</sup> International AIDS Conference. Durban, South Africa, July 2001. Abstract: LbOr2.
- <sup>454</sup>Musoke P, Guay LA, Bagenda D, et al. A phase I/II study of the safety and pharmacokinetics of nevirapine in HIV-1 infected pregnant Ugandan women and their neonates (HIVNET 006). *AIDS*. 1999; 13 (4): 479-86.
- <sup>455</sup>Ren J, Nichols C, Bird L, et al. Structural mechanism of drug resistance for mutations at codons 181 and 188 in HIV-1 reverse transcriptase and the improved resilience of second generation non nucleoside inhibitors. *J Mol Biol*. 2001; 12 (4): 795-805.
- <sup>456</sup>The International Perinatal HIV Group. The Mode of Delivery and the Risk of Vertical Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1- a Meta-Analysis of 15 Prospective Cohort studies. *N Engl J Med*. 1999; 340 (13): 977-87.
- <sup>457</sup>American College of Obstetricians and Gynecologists Committee Opinion. Scheduled cesarean delivery and the prevention of vertical transmission of HIV infection. 2000; May, n° 234.
- <sup>458</sup>Nielsen TF, Hoekgaard KH. Postoperative cesarean section morbidity: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. 1983; 146 (8): 911-5.
- <sup>459</sup>Wade N, Birkhead GS, French PT. Short courses of zidovudine and perinatal transmission of the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med*. 1999; 340: 1042-3.
- <sup>460</sup>Bardeguet A, Mofenson LM, Fowler M, et al. Lack of clinical or immunologic progression with transient use of zidovudine (ZDV) to reduce perinatal HIV transmission in PACTG 076. 12<sup>th</sup> World AIDS Conference, Geneva, Switzerland, 28June-3 July 1998. Abstract: 12233.
- <sup>461</sup>Culnane M, Fowler M, Lee SS, et al. Lack of long term effects of in utero exposure to zidovudine among uninfected children born to HIV infected women. *Pediatrics AIDS Clinical Trials Group Protocol 219/076 Teams. JAMA*. 1999; 281 (2): 151-7.
- <sup>462</sup>Trujillo JL, Moreno D, Glez NL, et al. Marcadores serológicos de VIH y hepatitis B y C en sangre de cordón de gestantes sin factores de riesgo. XXII Congreso Español de Ginecología y Obstetricia, Sevilla, España, 17-21 de Mayo 1993. Abstract: OL-23.
- <sup>463</sup>Deschamps MM, Pape JW, Desvarieux M, et al. A prospective study of HIV seropositive asymptomatic women of childbearing age in a developing country. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993; 6 (5): 446-51.
- <sup>464</sup>Saada M, Le Chenadec J, Berrebi A, et al. Pregnancy and progression to AIDS: results of the French prospective cohorts. SEROGEST and SEROCO Study Groups. *AIDS*. 2000; 14 (15): 2355-60.
- <sup>465</sup>Beld M, Penning M, Lukashov V, et al. Evidence that both HIV and HIV-induced immunodeficiency enhance HCV replication among HCV seroconverters. *Virology*. 1998; 244 (2): 504-512.
- <sup>466</sup>Minkoff H, Nanda D, Menez R, Fikrig S. Pregnancies resulting in infants with acquired immunodeficiency syndrome or AIDS-related complex: Follow-up of mothers, children, and subsequently born siblings. *Obstet Gynecol*. 1987; 69 (3 Pt 1): 288-91.
- <sup>467</sup>Kramer A, Biggar RJ, Hampl H, et al. Immunologic markers of progression to acquired immunodeficiency syndrome are time-dependent and illness-specific. *Am J Epidemiol* 1992; 136 (1): 71-80.
- <sup>468</sup>Morfeldt Manson L, Bottiger B, Nilsson B, von Stedingk LV. Clinical signs and laboratory markers in predicting progression to AIDS in HIV-1 infected patients. *Scand J Infect Dis* 1991; 23 (4): 443-9.
- <sup>469</sup>Immunological markers of AIDS progression: consistency across five HIV infected cohorts. Multicohort Analysis Project Workshop. Part I. *AIDS*. 1994; 8 (7): 911-21.

- <sup>470</sup>Guenther P, Muurahainen N, Simons G, et al. Relationships among nutritional status, disease, progression, and survival in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1993; 10: 1130-8.
- <sup>471</sup>Immunological markers in HIV infected pregnant women. The European Collaborative Study and the Swiss HIV Pregnancy Cohort. *AIDS*. 1997; 11 (15): 1859-65.
- <sup>472</sup>Johnstone FD, Thong KJ, Bird AG, Whitelaw J. Lymphocyte subpopulations in early human pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1994; 83 (6): 941-6.
- <sup>473</sup>Vimercati A, Greco P, Lopalco PL, et al. Immunological markers in HIV infected pregnant and non pregnant women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000; 90 (1): 37-41.
- <sup>474</sup>Plaeger S, Bermudez S, Mikyas Y, et al. Decreased CD8 cell mediated viral suppression and other immunologic characteristics of women who transmit human immunodeficiency virus to their infants. *J Infect Dis*. 1999; 179 (6): 1388-94.
- <sup>475</sup>Tranchat C, Van de Perre P, Simonon-Sorel A, et al. Maternal humoral factors associated with perinatal human immunodeficiency virus type-1 transmission in a cohort from Kigali, Rwanda, 1988-1994. *J Infect*. 1999; 39 (3): 213-20.
- <sup>476</sup>Trujillo JL, Raya JM, Trujillo FJ, et al. Análisis de las subpoblaciones linfocitarias T CD4+ y CD8+ mediante citometría de flujo en la gestación y puerperio inmediato fisiológicos. *Clin Invest Gin Obstet*. 1997; 24 (6): 241-246.
- <sup>477</sup>Fuchs D, Kramer A, Reibnegger G, et al. Neopterin and beta 2-microglobulin as prognostic indices in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Infection*. 1991; suppl 2: S98-102.
- <sup>478</sup>Fahey JL, Taylor JMG, Detels R, et al. The prognostic value of cellular and serological markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med*. 1990; 332 (3): 166-172.
- <sup>479</sup>Lifson AR, Hessel NA, Buchbinder, et al. Serum Beta-2 microglobulin and prediction of progression to AIDS in HIV infection. *Lancet*. 1992; 339 (8807): 1436-40.
- <sup>480</sup>Markham RB, Coberly J, Ruff AJ, et al. Maternal IgG1 and IgA antibody to V3 loop consensus sequence and maternal-infant HIV-1 transmission. *Lancet*. 1994; 343 (8909): 1364.
- <sup>481</sup>Re MC, Furlini G, Vignoli M, et al. Vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1. Prognostic value of IgA antibody to HIV-1 polypeptides during pregnancy. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15 (6): 553-6.
- <sup>482</sup>Phillips AN, Sabin CA, Elford J, et al. CD8 lymphocyte counts and serum immunoglobulin A levels early in HIV infection as predictors of CD4 lymphocyte depletion during 8 years of follow-up. *AIDS*. 1993; 7 (7): 975-80.
- <sup>483</sup>Rubio Caballero M, Nogues Biau A, Falguera Sacrest M, Puig Ganau T. The prognostic markers of HIV infection progression. A study of the p24 antigen in a cohort of 251 patients. *An Med Interna* 1999; 16 (9): 447-50.
- <sup>484</sup>Rich KC, Janda W, Kalish LA, et al. Immune complex-dissociated p24 antigen in congenital or perinatal HIV infection: role in the diagnosis and assessment of risk of infection in infants. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997; 15 (3): 198-203.
- <sup>485</sup>Burns DN, Landesman S, Wright DJ, et al. Influence of other maternal variables on the relationship between maternal virus load and mother-to-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis*. 1997; 175 (5): 1206-10.
- <sup>486</sup>Mofenson LM, Lambert JS, Stiehm ER, et al. Risk factors for perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 in women treated with zidovudine. *Pediatric AIDS Clinical Trials Group Study 185 Team*. *N Engl J Med*. 1999; 341 (6): 385-93.
- <sup>487</sup>Ramos Amador JT, Contreras JR, Bastero R, et al. Estimate of HIV-1 infection prevalence in pregnant women and effectiveness of zidovudine administered during pregnancy in the prevention of vertical

- transmission. *Med Clin (Barc)*. 2000; 114 (8): 286-91.
- <sup>488</sup>Carneiro M, Sanchez A, Maneiro P, et al. Vertical HIV-1 transmission: prophylaxis and paediatric follow-up. *Placenta*. 2001; 22 (suppl A): S13-8.
- <sup>489</sup>Groginsky E, Bowdler N, Yankowitz J. Update on vertical HIV transmission. *J Reprod Med*. 1998; 43 (8): 637-46.
- <sup>490</sup>Casas E, Gomez Cano M, Adrados M, et al. Combined antiretroviral therapy for prevention of vertical HIV-1 transmission. *An Med Interna*. 1998; 15 (3): 148-51.
- <sup>491</sup>Silverman NS, Watts DH, Hitti J, et al. Initial multicenter experience with double nucleoside therapy for human immunodeficiency virus infection during pregnancy. *Infect Dis Gynecol*. 1998; 6 (6): 237-43.
- <sup>492</sup>Tapp Alter K. The protease inhibitors. *Prim Care Update Ob Gyns*. 2001; 8 (2): 59-64.
- <sup>493</sup>White A, Eldridge R, Andrews E. Birth outcomes following zidovudine exposure in pregnant women: the Antiretroviral Pregnancy Registry. *Acta Paediatr Suppl*. 1997; 421: 86-8.
- <sup>494</sup>Villegas Castrejón H, Mayon González J, Paredes Vivas Y, Karchmer S. Response of fetal macrophages in the placenta of pregnant HIV positive patients with and without antiretroviral treatment. *Ginecol Obstet Mex*. 1999; 67: 196-206.
- <sup>495</sup>Watson WJ, Stevens TP, Weinberg GA. Profound anemia in a newborn infant of a mother receiving antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J*. 1998; 17 (5): 435-6.
- <sup>496</sup>Wilkinson D, Rutherford G. Population based interventions for reducing sexually transmitted infections including HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001; (2): CD001220.
- <sup>497</sup>Ahmed SD, Cuevas LE, Brabin BJ, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C and HIV in Malawian pregnant women. *J Infect*. 1998; 37(3): 248-51.
- <sup>498</sup>Hershow RC, Riester KA, Lew J, et al. Increased vertical transmission of human immunodeficiency virus from hepatitis C virus coinfecting mothers. Women and Infants Transmission Study. *J Infect Dis*. 1997; 176 (2): 414-20.
- <sup>499</sup>Conte D, Fraquelli M, Prati D, et al. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15.250 pregnant women. *Hepatology*. 2000; 31 (3): 751-5.
- <sup>500</sup>Landers DV, Martinez de Tejada B, Coyne BA. Immunology of HIV and pregnancy. The effects of each on the other. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997; 24 (4): 821-31.
- <sup>501</sup>Figueroa-Damian R. Pregnancy outcome in women infected with the human immunodeficiency virus. *Salud Publica Mex*. 1999; 41 (5): 362-7.
- <sup>502</sup>Brocklehurst P, French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105 (8): 836-48.
- <sup>503</sup>Kuhn L, Steketee RW, Weedon J. 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 (1): 52-8.
- <sup>504</sup>Calarota SA, Libonatti OV. Maternal antibodies to HIV-1 envelope domains: No correlation with HIV-1 vertical transmission in patients from Argentina. *Scand J Immunol* 2000; 52 (3): 292-7.
- <sup>505</sup>Greco P, Vimercati A, Fiore JR, et al. Maternal viral and gestational risk factors in vertical transmission of HIV-1 infection. *Minerva Ginecol*. 1998; 50 (11): 449-54.
- <sup>506</sup>Marczynska M, Szczepanska-Putk M. Vertical transmission of HIV-1 in Poland. *Scand J Infect Dis*. 2000; 32 (2): 165-7.
- <sup>507</sup>Morris AB, Cu-Uvin S, Harwell JI, et al. Multicenter Review of Protease Inhibitors in 89 Pregnancies. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000; 25 (4): 306-311.

- <sup>508</sup>Hart CE, Lennox JL, Pratt-Palmore M, et al. Correlation of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in blood and the female genital tract. *J Infect Dis.* 1999; 179 (4): 871-82.
- <sup>509</sup>Ehrnst A, Lindgren S, Dictor M, et al. HIV in pregnant women and their offspring: evidence for transmission. *Lancet.* 1991; 338 (8761): 203-7.
- <sup>510</sup>Taha TE, Gray RH. Genital tract infections and perinatal transmission of HIV. *Am N Y Acad Sci.* 2000; 918: 84-98.
- <sup>511</sup>Goldenberg RL, Vermund SH, Goepfert AR, et al. Choriodecidual inflammation: a potentially preventable cause of perinatal HIV-1 transmission?. *Lancet.* 1998; 352 (9144): 1927-30.
- <sup>512</sup>Henin Y, Mandelbrot L, Henrion R, et al. Virus excretion in the cervicovaginal secretions of pregnant and nonpregnant HIV infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1993; 6 (1): 72-5.
- <sup>513</sup>Maiques V, Garcia-Tejedor A, Perales A, Navarro C. Intrapartum fetal invasive procedures and perinatal transmission of HIV. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999; 87 (1): 63-7.
- <sup>514</sup>Viscarello RR, Copperman AB, DeGennaro NJ. Is the risk of perinatal transmission of human immunodeficiency virus increased by intrapartum use of spiral electrodes or fetal scalp pH sampling?. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 170 (3): 740-3.
- <sup>515</sup>Biggar RJ, Miotti PG, Taha TE, et al. Perinatal intervention trial in Africa: effect of a birth canal cleansing intervention to prevent HIV transmission. *Lancet.* 1996; 347 (9016): 1647-50.
- <sup>516</sup>Milosevik S. Perinatal infection with the human immunodeficiency virus. *Med Pregl.* 1998; 51 (7-8): 325-8.
- <sup>517</sup>Dabis F, Msellati P, Meda N et al. 6 month efficacy, tolerance, and acceptability of a short regimen of oral zidovudine to reduce vertical transmission of HIV in breastfed children in Cote d'Ivoire and Burkina Faso: a double blind placebo controlled multicenter trial. DITRAME Study Group. *Diminution de la Transmission Mere-Enfant.* *Lancet.* 1999; 353 (9155): 786-92.
- <sup>518</sup>Watts DH, Lambert JS, Stiehm ER, et al. Complications according to mode of delivery among human immunodeficiency virus infected women with CD4 lymphocyte counts of  $< \text{or} = 500/\mu\text{L}$ . *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183 (1): 100-7.
- <sup>519</sup>Olayinka BA, Obi CL. Symptomatic HIV infection in infants according to serostatus of mothers during pregnancy. *East Afr Med J.* 1999; 76 (10): 566-70.
- <sup>520</sup>Semba RD. Mastitis and transmission of human immunodeficiency virus through breast milk. *Am N Y Acad Sci.* 2000; 918: 156-62.
- <sup>521</sup>Guay LA, Musoke P, Fleming T, et al. Intrapartum and neonatal single dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother to child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIV NET 012 randomised trial. *Lancet.* 1999; 354 (9181): 795-802.
- <sup>522</sup>Brocklehurst P, Volmink J. Antiretrovirals for reducing the risk of mother to child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002; (1): CD003510.
- <sup>523</sup>Mitchla Z, Sharland M. Current treatment options to prevent perinatal transmission of HIV. *Expert Opin Pharmacother.* 2000; 1 (2): 239-48.
- <sup>524</sup>Lepage P, Hainaut M. Reduction of perinatal transmission of HIV antiretroviral prophylaxis and obstetrical interventions. *Rev Med Brux.* 2000; 21 (6): 488-92.
- <sup>525</sup>Sachs BP, McCharty BJ, Rubin G, et al. Cesarean section: risk and benefits for mother and fetus. *JAMA.* 1983; 250 (16): 2157-9.
- <sup>526</sup>Maiques Montesinos V, Cervera Sanchez J, Bellver Pradas J, et al. Post-cesarean section morbidity in HIV positive women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1999; 78 (9): 789-92.
- <sup>527</sup>McGowan JP, Shah SS. Prevention of perinatal HIV transmission during pregnancy. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 46 (5): 657-68.

<sup>528</sup>Chandwani S, Greco MA, Mittal K, et al. Pathology and human immunodeficiency virus expression in placentas of seropositive women. *J Infect Dis.* 1991; 163 (5): 1134-8.

<sup>529</sup>Backé E, Jimenez E, Unger M, et al. Vertical human immunodeficiency virus transmission a study of placental pathology in relation to maternal risk factors. *Am J Perinatol.* 1994; 11 (5): 326-30.

<sup>530</sup>Katz JM, Fox CH, Eglinton GS, et al. Relationship between human immunodeficiency virus-1 RNA identification in placenta and perinatal transmission. *J Perinatol.* 1997; 17 (2): 119-24.

<sup>531</sup>Peuchmaur M, Delfraissy JF, Pons JC, et al. HIV proteins absent from placentas of 75 HIV-1 positive women studied by immunohistochemistry. *AIDS* 1991; 5 (6): 741-5.

<sup>532</sup>Mattern CF, Murray K, Jensen A, et al. Localization of human immunodeficiency virus core antigen in term human placentas. *Pediatrics* 1992; 89 (2): 207-9.

<sup>533</sup>Huang CM, Ruddel M, Elin RJ et al. Enzyme abnormalities of patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Chem.* 1988; 34: 2574-6.

<sup>534</sup>Montesinos Hernández MI, Trujillo Carrillo JL, Suárez Hernández MN, et al. Estudio de enfermedades de transmisión sexual (ETS) en muestras vaginales y cervicales de un grupo de toxicómanas embarazadas. IX Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Santiago de Compostela, España, 21-24 de Mayo 2000. Abstract: 386.

## *ABREVIATURAS*

---

**Ac:** Anticuerpo.  
**ACO:** Anticonceptivos hormonales orales.  
**AcMo:** Anticuerpos monoclonales.  
**ACTG:** Grupo de ensayos clínicos sobre el SIDA.  
**AcVHC:** Anticuerpos frente a la Hepatitis C.  
**ADN:** Ácido desoxirribonucleico.  
**ADVP:** Adicción a drogas vía parenteral.  
**AFIP:** Instituto de las Fuerzas Armadas de la Patología.  
**Ag:** Antígeno.  
**ANRS:** Agencia Nacional de Investigación sobre el SIDA.  
**ARN:** Ácido ribonucleico.  
**AZT:** Azitomidina, zidovudina.  
**CAD:** Centros de atención de los drogodependientes.  
**CDC:** Centro para el Control de las Enfermedades de Atlanta.  
**CV:** Carga viral.  
**CD4:** Linfocitos T4.  
**CD8:** Linfocitos T8.  
**CFG:** Control de final de gestación.  
**CIN:** Neoplasia intracervical.  
**cm:** centímetro(s).  
**cm<sup>3</sup>:** centímetro(s) cúbico(s).  
**CMV:** Citomegalovirus.  
**CPK:** Creatin-fosfo-kinasa.  
**ddC:** Zalcitabina.  
**ddI:** Didanosina.  
**DIU:** Dispositivo intrauterino.  
**d4T:** Stavudina.  
**EIA:** Enzimo-inmunoanálisis.  
**ELISA:** Enzyme linked immunosorbent assay.  
**ETS:** Enfermedades de Transmisión Sexual.  
**FA:** Fosfatasa alcalina.  
**g:** gramo(s).  
**GM-CSF:** Factor estimulador de los granulocitos y macrófagos.  
**GOT:** Aspartato aminotransferasa.  
**GPT:** Alanina aminotransferasa.  
**Gp:** Glicoproteína.  
**h:** hora(s).  
**HBcAc:** Anticuerpo frente al core de la Hepatitis B.  
**HBsAc:** Anticuerpo frente al antígeno de superficie de la Hepatitis B.  
**HBsAg:** Antígeno de superficie de la Hepatitis B.  
**HIS:** Hibridación *in situ*.  
**IFI:** Inmunofluorescencia indirecta.  
**Ig:** Inmunoglobulina.  
**IL:** Interleukina.  
**IF:** Interferón.  
**i.m.:** intramuscular  
**INSERM:** Instituto Nacional para la Salud del Niño y el Desarrollo Humano.  
**IP:** Inhibidores de la proteasa.  
**ISPCR:** PCR *in situ*  
**i.v.:** intravenoso  
**IVE:** Interrupción voluntaria del embarazo.  
**kg:** kilogramo.

**LDH:** Lactato deshidrogenasa.  
**LIA:** Inmunoanálisis lineal.  
**LTB:** Ligadura tubérica bilateral.  
**min:** minuto(s).  
**mg:** miligramo(s).  
**ml:** mililitro(s).  
**µg:** microgramo(s).  
**ng:** nanogramo(s).  
**NK:** Natural Killer.  
**NIAID:** Instituto Nacional de Alergología y Enfermedades Infecciosas.  
**NICHD:** Instituto Nacional para la Salud del Niño y el Desarrollo Humano.  
**PBS:** Phosphate Bassered Saline.  
**PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.  
**PFA:** Paraformaldehido.  
**pg:** picogramo(s).  
**RIPA:** Radioinmunoprecipitación.  
**RTI:** Retrotranscriptasa inversa.  
**SIDA:** Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.  
**SK:** Sarcoma de Kaposi.  
**3TC:** Lamivudina.  
**TGF-beta:** Factor de transformación de crecimiento beta.  
**TMF:** Transmisión materno-fetal.  
**TNF:** Factor de necrosis tumoral.  
**USPHS:** Servicio Público de Salud de los EEUU.  
**VIH:** Virus de la inmunodeficiencia humana.  
**v.o.:** vía oral.  
**WB:** Western Blot.