



Determinación de linfocitos T CD4 y CD8 en niños VIH positivos con terapia

Reyna Moronta¹.
Leticia Porto².
César Cuadra-Sánchez³.
Arelis Lleras⁴.
Héctor Villalobos⁵.
Mary Araujo⁶.
Ricardo Atencio⁷.
Diana Callejas⁸.

¹Bióloga Laboratorio Regional de referencia Viroológica - LUZ
rmmorontap@yahoo.com

²Laboratorio Regional de Referencia Viroológica - LUZ

³Laboratorio Regional de Referencias Viroológica - LUZ

⁴Fundación Innocens (SAHUM), Maracaibo

⁵Fundación Innocens (SAHUM), Maracaibo

⁶Laboratorio Regional de Referencias Viroológica - LUZ

⁷Laboratorio Regional de Referencia Viroológica - LUZ

⁸Laboratorio Regional de Referencia Viroológica - LUZ

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina -
Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 24 de Enero del 2006 a la Revista Vitae Academia Biomédica
Digital.

RESUMEN

Se determinó los niveles CD4 y CD8 en niños VIH positivos del estado Zulia como parámetro de eficacia de tratamientos antirretrovirales. Se estudiaron 50 niños (1-12 años) de la Fundación Innocens. La subpoblación linfocitos CD4 y CD8 se determinó mediante citometría de flujo y se

suministraron tratamientos antirretrovirales en tripletas. Los datos se analizaron mediante programa SPSS Windows, versión 11,0; 2.001, siendo significativo ($p < 0,05$) entre los niveles CD4, CD8 y CD4/CD8, y la prueba de Tukey reveló que los tratamientos que tuvieron diferencias significativas (p

PALABRAS CLAVE: Linfocitos T CD4 y CD8, niños VIH positivos, terapia antirretroviral.

DETERMINATION OF T CD4 AND CD8 Lymphocytes IN HIV POSITIVE CHILDREN WITH

SUMMARY

This study evaluates the levels of CD4 and CD8 in HIV positive children Zulia state as parameter of efficiency of antirretroviral treatments. 50 children Innocens Foundation ages 1-12 living with or affected by HIV were studied. The subpopulation CD4 and CD8 lymphocytes decided by means of flow cytometry and the antirretroviral treatments given by triplicate. The analysis information realized means of the program SPSS Windows, version 11,0; 2.001, being significant everything ($p < 0,05$) between the levels of CD4, CD8 and CD4/CD8, and Tukey's test revealed that only treatments had significant differences (p

KEY WORDS: T CD4 and CD8 Lymphocytes, HIV positive children, antirretroviral therapy.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una enfermedad causada por el virus de Inmunodeficiencia humana (VIH), caracterizada por una profunda inmunodepresión con características clínicas diversas, entre las que incluyen: infecciones oportunistas, neoplasias, degeneración del sistema nervioso central y muerte.

Esta infección se ha convertido en una epidemia a nivel mundial que ha resultado ser mucho más compleja de lo que se pensaba, tanto en el ámbito biológico como social (4, 22).

Actualmente hay en el mundo 42 millones de personas infectadas con el VIH, de las cuales 1,3 millones son niños. En Venezuela, el impacto del SIDA también ha sido significativo, existen registros sobre 150.000 casos de personas con VIH. La población bisexual ha ocupado desde hace siete años el primer lugar de incidencia, lo que ha generado un incremento en la transmisión del virus en mujeres entre 20 y 40 años y por ende el aumento significativo de casos de niños infectados.

Existen hasta la fecha más de 210 casos, de los cuales el 68% están infectados por VIH y reciben tratamiento, el resto son niños expuestos al virus, es decir, hijos de madre VIH positiva que están en período de descarte de la enfermedad. Por otra parte, en el Estado Zulia, se han reportado existen 8.234 casos de personas con VIH, entre los que se encuentran más de 80 niños infectados, de los cuales 65 niños se hallan bajo control y tratamiento con antirretrovirales (2,21).

La infección primaria se manifiesta cuando los viriones presentes en la sangre, el semen u otros líquidos corporales de un individuo infectado, entran en los linfocitos mediante fenómenos de fusión mediados por receptores celulares gp120 y gp41. Dependiendo del sitio de la exposición inicial al virus, las primeras células infectadas pueden ser las células que expresan CD4, entre ellas las células T colaboradoras y macrófagos (13, 14, 19).

El curso de la enfermedad por el VIH puede evaluarse a través del recuento de virus y T CD4+ en el paciente (19). EL conteo de linfocitos CD4 positivos es uno de los parámetros más importantes en los que se basan las decisiones terapéuticas para pacientes infectados por el VIH.

En la historia natural de la enfermedad se aceptan tres puntos de corte, que son clínicamente relevantes: a) contajes por debajo de 500 células/ml es indicativo para iniciar tratamiento con zidovudina; b) contajes por debajo de las 200 células/ml aumenta el riesgo de tener neumonía por *Pneumocistis carinii* y, por tanto, se recomienda iniciar profilaxis primaria con trimetoprim-sulfametoxasol; y, c)carinnii y, por tanto, se recomienda iniciar profilaxis primaria con trimetoprim-sulfametoxasol; y, c)cuentas menores de 100 células/ml se encuentran en personas con infección por *Micobacterium avium-intracellulare*, por lo que también se ha recomendado profilaxis contra este patógeno.avium-intracellulare, por lo que también se ha recomendado profilaxis contra este patógeno.

Además, a partir de 1993 la definición epidemiológica de caso de SIDA utilizada por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, incluye a personas infectadas por VIH con cuentas de células CD4 inferiores a 200cel/ml (7, 9).

El tratamiento en el niño, es difícil por la no disponibilidad de presentaciones pediátricas en todas las drogas antiretrovirales, muchas veces, el sabor y la preparación es una limitante, aunque se siguen utilizando para éste las presentaciones de adulto. En un intento para poder garantizar adherencia en el paciente pediátrico y disminuir los costos del tratamiento antiretroviral, se ideó un sistema de suministro, donde según el peso del paciente se calcula la dosis y se le suministra la droga, del esquema asignado cada mes, lográndose un ahorro sustancial en el presupuesto y una adecuada adherencia al tratamiento (1, 15, 23, 24).

La presente investigación proporciona una visión más completa de la realidad epidemiológica del VIH en niños de la región. Su objetivo principal es determinar los niveles de linfocitos T CD4 y CD8 en pacientes pediátricos VIH positivos como parámetro de eficacia de tratamientos antirretrovirales.

METODOLOGÍA

1. Población de estudio y criterios de selección. Durante un periodo de tres años 2001-2003, se seleccionaron 50 pacientes pediátricos con infección por VIH de la Fundación Innocens, Maracaibo-Venezuela en edades comprendidas de 1 a 12 años. Esta investigación incluyó niños de todas las razas, sin distinción de sexo, y con tratamiento antirretroviral.

A todos los pacientes se les efectuó una Historia Clínica, realizada por médicos especialistas en el área con datos específicos y completos. Los padres o tutores legales de todos los pacientes pediátricos dieron su consentimiento informado por escrito según las Normas del Código de Bioética y Bioseguridad, Capítulos 2 y 3 (3).

Para participar en la investigación, los niños recibieron como beneficio la realización de todo el estudio clínico y de laboratorio sin costo alguno.

2. Toma de muestra y recuento de linfocitos T CD4 y CD8. A cada paciente se le tomó una muestra de aproximadamente 5cc de sangre venosa en tubos Vacutainer con EDTA. La

muestra se utilizó para la determinación de la subpoblación de linfocitos T CD4 y CD8 mediante ometría de flujo.

El recuento de los linfocitos T CD4 y CD8 (en combinación con la carga viral) es un fiel indicador del estado del paciente. El recuento de los linfocitos CD4 y CD8 se hizo directamente de una muestra de sangre usando un c de Flujo FACS MANTAGE. Para ello se utilizó Anticuerpo monoclonal de rata Anti CD4 (L-3T4) casa comercial BD Biosciences Phar Migen Technical y Anti-CD8 (Ly-2) Phar Migen Technical, los cuales fueron conjugados con R-Phycoerytrin (R-PE).

Esto permitió distinguir estas células de las demás en la muestra y contarlas mientras pasaron por el detector del citómetro. Para el análisis de la citometría de flujo se utilizó el paquete Software de computadora WinMDI 2.8.

3. Tratamientos suministrados. Los tratamientos antirretrovirales suministrados a los niños fueron indicados por Médicos Pediatras especialistas en el área. Esta terapia consistió de tripletas de medicamentos que incluyeron dos inhibidores de transcriptasa inversa y un inhibidor de proteasa (Tabla 1).

Tabla 1.- Tratamientos antirretrovirales empleados en los pacientes pediátricos

Inhibidores de Transcriptasa Inversa Análogos a Nucleósidos	Inhibidores de Transcriptasa Inversa No Análogos a Nucleósidos	Inhibidores de Proteasa
Zidovudina (AZT) Stavudina (dT4) Lamivudina (3TC) Abacavir (Ziagen)	Neviparine	Nelfinavir Lopinavir/Ritonavir(Kaletra)

4. Análisis estadístico. Los resultados se analizaron a través del programa SPSS Windows, versión 11.0, 2.001, y se presentaron en forma de tabla de Distribución de Frecuencia. Estos se examinaron a través del Anélisis de Varianza (ANOVA), determinándose los diferentes grupos con el Post-análisis de Tukey. La relación de las variables obtenidas en las determinaciones de cada población, se estudiaron em pleando el test de correlación de Pearson.

Se tomó como índice de confianza el 95%, considerándose como significativo todo valor de probabilidad menor a 0,05 ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los pacientes estudiados se les evaluó los niveles de linfocitos T CD4 y CD8; con el fin de predecir la progresión clínica de la infección y corroborar su valor como parámetro para medir la eficacia de los tratamientos antirretrovirales. Muchos investigadores y más recientemente

Chinen y Shearer en el 2.002 (6), han reportado que el conteaje de linfocitos T CD4 y CD8 es de gran valor pronóstico de la progresión de la enfermedad en niños VIH positivos.

En este estudio se pudo observar que la terapia antirretroviral estaba ejerciendo buen efecto, debido que a medida que se hacía el seguimiento de los niveles de linfocitos a través de los Años, los niños respondían bien al tratamiento aumentando los niveles de CD4 y CD8 (Tabla 2), resultados semejantes fueron reportados por Paul y Col, 2.001 (20) y por Vigan y Col, 2.001 (25).

Con esto se evidenció que el sistema inmunitario de los niños aún tenía la capacidad de controlar el VIH, pudiendo así evitar enfermedades oportunistas relacionadas con el mismo. Los niveles de CD4 de los niños VIH positivos para que sean inmunocompetentes deben estar dentro de los siguientes rangos (Tabla 3):

Tabla 2.- Niveles de linfocitos CD4 y CD8 en los tres Años de estudios con respecto a la edad de los niños

Año 2001			
Edad (Años)	CD4 (cel/ml)	CD8 (cel/ml)	CD4/CD8
1-6	936 ± 662	1.216 ± 918	0,86 ± 0,4
7-12	560 ± 397	976 ± 641	0,62 ± 0,3
Año 2002			
1-6	1.244 ± 1.320	1.723 ± 1.608	1,01 ± 1,4
7-12	852 ± 751	1.183 ± 779	0,76 ± 0,4
Año 2003			
1-6	1.301 ± 1.231	1.571 ± 1.381	0,85 ± 0,33
7-12	874 ± 501	1.183 ± 401	0,69 ± 0,34

Los niveles de CD4 de los niños VIH positivos para que sean inmunocompetentes deben estar dentro de los siguientes rangos (Tabla 3):

Tabla 3.- Valores de CD4 de los niños VIH positivos inmunocompetentes

Edad (Años)	CD4 Absoluto (cel/ml)
1-6	>1.000-1.499
7-12	>500-999

Ningún niño llegó a estar inmunosuprimido, es decir que no alcanzaron niveles de CD4 por debajo de 500 cel/ml y 200 cel/ml para niños de 1-6 Años y 7-12 Años, respectivamente. Por el contrario, se observó que los niños se mantenían con niveles de CD4 elevados (Tabla 2), considerándose inmunocompetentes (Tabla 3).

También se mantuvieron elevadas los niveles de CD8 y la relación CD4/CD8 tanto en niños de 1 a 6 Años como de 7-12 Años. Sin embargo, se detectó en niños de menores edades que los niveles de CD4 y CD8 eran bajos e iban elevándose en niños de edades mayores (Tabla 2). Semejante a lo reportado por Matija, 2.003 (16) y Chiappini y Col, 2.003 (5), quienes indicaron que esto se debe a que los niños de menores edades son particularmente susceptibles a los efectos del virus, ya que su sistema inmunitario no se ha desarrollado completamente en el momento de la infección primaria, mostrando así un mal pronóstico en los primeros Años de vida con un índice bajo de linfocitos T CD4 y CD8 y de rápido progreso de la enfermedad.

Todo ello se corroboró al realizar el análisis de correlación con los niveles de CD4, CD8 y CD4/CD8, los cuales mostraron correlaciones no significativas ($P>0,05$). Esta diferencia se puede deber a la descrita anteriormente por Matija, 2.003 (16) y Chiappini y Col, 2.003 (5), es decir a la inmadurez del sistema inmunitario de los niños, pero también a la gran heterogeneidad de los valores de CD4 y CD8 en los rangos de edad de los pacientes pediátricos estudiados. Es importante resaltar que el sistema inmunitario de los niños todavía está en desarrollo, por lo que ellos tienen una respuesta diferente a la infección por el VIH. El recuento de células T es más alto que en los adultos, responden en forma diferente a los medicamentos anti VIH y no siempre se sabe cuál es la dosis correcta. Según Giba en el 2.001 (10) y Haas y Col en el 2.003 (11), la dosis de los niños se basa en la superficie corporal. Además, existen varios factores que pueden afectar los niveles de medicamentos en los niños, por lo que se hace necesario ajustar las dosis de los antirretrovirales varias veces a medida que el niño crece.

La terapia antirretroviral en niños VIH positivos es complicado, ya que no todos los medicamentos anti VIH están aprobados para su uso en ellos y porque no siempre se conocen las dosis correctas.

Quizás los niños tengan dificultades para tolerar los medicamentos y para tomar las dosis en el horario correspondiente. Sin embargo, debido a que el sistema inmunitario de los niños está en desarrollo, quizás tengan más posibilidades de recuperarse completamente del daño causado por el VIH (1, 12).

En esta investigación se observó que el más efectivo de las tripletas de antirretrovirales medicados en los niños fue el T125=AZT+3TC+Nelfinavir, seguido por el T346=D4T+Neviparina+Lopinavir/Ritonavir, debido a que estos tratamientos fueron lo que mantuvieron elevados en mayor proporción los niveles de CD4 en los pacientes pediátricos, mientras que los tratamientos menos efectivos fueron el T257=3TC+Nelfinavir+Abacavir y el T367=d4T+Lopinavir/Ritonavir+ Abacavir, ya que se asociaron a niveles de linfocitos T CD4 bajos, es decir no ejercían efectos favorables en el niño. En tal sentido, es relevante destacar que en estos últimos al compararlos con los mejores tripletes de tratamientos utilizados, sólo se cambió un análogo de nucleósido inhibidor de transcriptasa inversa (TI) por otro como el Abacavir.

El Abacavir conocido con el nombre comercial de Ziagen, es un inhibidor de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (NRTI), el cual ha sido aprobado y estudiado en combinación

con otros antirretrovirales. Para los niños el Abacavir existe en forma de jarabe y con la dosis recomendada se ha producido un aumento medio de más de 100 CD4 en pacientes que no habían recibido tratamiento previo. Sin embargo, en pacientes con experiencia previa con tratamientos antirretrovirales los resultados no son tan buenos: los pacientes tratados con AZT o AZT + 3TC no obtenían aumentos importantes de CD4 y CD8 y mucho menos al agregarle Abacavir.

Por otra parte, en un estudio realizado por Chiappini y Col, 2003, en adultos sin tratamiento previo, el análisis interno a las 16 semanas demostró que la combinación de tres NRTI (Abacavir+3TC+AZT) era superior a la combinación de dos NRTI más un inhibidor de proteasa. Este último se implementó en este estudio Abacavir+3TC+Nelfinavir o Abacavir+dT4+Lopinavir/Ritonavir y resultaron ser inadecuados, debido a que los linfocitos T CD4 y CD8 se mantenían por debajo de los niveles normales.

Para probar la influencia que tenían catorce tripletas de tratamiento y el tiempo (Años) sobre los CD4 y CD8 y evaluar el posible efecto de interacción entre los tratamientos y los Años, se realizó un análisis de varianza para mediciones repetidas, la cual es una técnica estadística que es especialmente útil cuando se tienen estudios longitudinales y se toman tres o más mediciones de la misma variable dependiente para cada sujeto en diferentes momentos (8, 17).

El ANOVA evidenció que no existe efecto de interacción entre los tratamientos y los Años y que tampoco existe efecto significativo según los Años, lo cual permitió una corrida de la data extrayendo en esta ocasión la interacción y el tiempo, puesto que no eran significativas ($p > 0,05$).

La nueva corrida del ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis para evaluar el efecto del tratamiento sobre los niveles de CD4 y CD8 reveló una diferencia significativa ($P < 0,05$), mostrando que los tratamientos difieren. Seguidamente, se aplicó la prueba de Tukey para verificar cuál o cuáles tratamientos son los responsables de las diferencias significativas anunciadas por la prueba F de Fisher -Snedecor.

La prueba de Tukey reveló que los únicos tratamientos que tienen diferencias significativas ($p < 0,05$) son: AZT+3TC+Nelfinavir con el 3TC+Nelfinavir+Abacavir y con el d4T+Lopinavir/Ritonavir+Abacavir. Los restantes tratamientos no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$).

Por el momento, no se ha conseguido una terapia curativa para la infección por el VIH y sigue siendo la prevención la mejor estrategia terapéutica, pero los progresos en el entendimiento de la infección por este virus, el conocimiento de la cinética de replicación viral en las distintas fases de la enfermedad, la determinación de la carga viral, que permite individualizar el tratamiento más adecuado en cada momento y en cada paciente, junto con la posibilidad de disponer de nuevos antirretrovirales y la demostración de que la terapia combinada es más eficaz, supone un avance importante en cuanto al aumento de la supervivencia y la calidad de vida de los niños infectados.

Además, por las dificultades de los estudios clínicos controlados con antirretrovirales en niños, las limitaciones de la población en estudio, la problemática del diagnóstico de infección por el VIH, la necesidad de evaluar distintos grupos de edad (neonatos, lactantes y escolares), la presentación de la medicación (suspensión oral) y los estrictos criterios éticos de la investigación en niños,

hacen que sean escasos los datos publicados y que existan grandes variaciones en la práctica clínica al aplicar dichos tratamientos. Sin embargo, es lógico asumir los resultados de eficacia clínica de tratamiento antirretroviral comprobados en adultos, aunque no sea del todo superponible la historia natural de la infección por el VIH en el niño y existan interrogantes por el momento no clarificadas, como cuál es el nivel de CD4 y CD8 con el que se debe iniciar el tratamiento antirretroviral o con el cuál se indique ineficacia terapéutica.

En esta investigación los linfocitos CD4 y CD8 demostraron ser un índice para guiar las decisiones sobre el tratamiento individual y para evaluar si los fármacos anti VIH están siendo efectivos o no. Además que, se pudo observar que de los tratamientos empleados los que ejercieron buen efecto sobre los pacientes pediátricos fueron: el AZT+3TC+Nelfinavir y el Neviparine+dT4+Lopinavir/Ritonavir. Sin embargo, se recomienda determinar la carga viral como herramienta para la evolución y parámetro de eficacia de los tratamientos antirretrovirales en niños en conjunto con la evaluación de linfocitos CD4 y CD8, para que así el medico pueda realizar cambios terapéuticos más efectivos en estos pacientes y predecir el curso de su infección.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal y a los niños de la Fundación Innocens por su valiosa colaboración y ayuda en la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abadía-Barreto C, Arachu, C. Experiences of stigma and access to HAART in children and adolescents living with HIV/AIDS in Brazil. *Social Science & Medicine* 2006; 62: 1219-1228.
2. Bernardoni C, Menito M, Villalobos H, Torres A, Rivera N, García R, Pereira S. *Fundacion Innocens, esperanza para el niño con VIH-SIDA. La Universidad Del Zulia y Servicio Autónomo Innocens, esperanza para el niño con VIH-SIDA. La Universidad Del Zulia y Servicio Autónomo Hospital Universitario De Maracaibo (SAHUM).* 2003.
3. Briceño E, Suárez E, Michelangi C, Feliciangeli D, Otaiza E, Mendible J, Villalón M, Aguilera M, Ceballo H, Godoy J, et al. *Código de Bioética y Bioseguridad, Capítulo 2 y 3.* Aguilera M, Ceballo H, Godoy J, et al. *Código de Bioética y Bioseguridad, Capítulo 2 y 3.* Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT). 2da Edición. Venezuela. 2002.
4. Cavazza M, Correnti M. Determinación de la carga viral de VIH y su importancia clínica. *Revista de la Facultad de Medicina (MSAS-UCV)* 1999; 22: 11-15. de la Facultad de Medicina (MSAS-UCV) 1999; 22: 11-15.
5. Chiappini E, Galli L, Azzari C, De Martino M. Nitric oxide in HIV-1 perinatally infected children treated with highly active antiretroviral therapy. *The Lancet Infectious Diseases* 2003 ; 3(3): 341-346.
6. Chinen J, Shearer W. Molecular virology and immunology of HIV infection. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2002; 110(2): 1166-1186. and *Clinical Immunology* 2002; 110(2): 1166-1186.
7. Centers for Disease Control (CDC). 1992. Recommendations for prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia for adults and adolescents infected with human immunodeficiency virus. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 41 (No. RR-41).

8. Daniel W. *Bioestadística*. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Limusa-Wiley. México, 2002.
9. Flexner C. Dual protease inhibitor therapy in HIV-Infected Patients: Pharmacologic Rationale and Clinical Benefits. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 2000; 40: 649-674.
10. Gibba D. Five year follow up of vertically HIV infected children in a randomised double blind controlled trial of immediate versus deferred zidovudine: the PENTA 1 trial. *Pediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA)* 20014; 84: 230-236. Network for Treatment of AIDS (PENTA) 20014; 84: 230-236.
11. Haas D, Johnson B, Spearman M, Raffanti S, Nicotera J, Schmit D, Hilgan T, Shepard R. Fiscus S. Two phases of HIV RNA decay in CFS during initial days of multidrug therapy. *Neurology* Fiscus S. Two phases of HIV RNA decay in CFS during initial days of multidrug therapy. *Neurology* 2003; 61(10): 1-11.
12. Kotler D. Human immunodeficiency virus and pregnancy. *Gastroenterology Clinics* 2003; 32: 1-11.
13. Kwong P, Wyatt R, Robinson J, Sweet R, Sodroski J, Hendrickson W. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* 1998; 393: 648-659. 1998; 393: 648-659.
14. Mandell B, Douglas W, Bennett's C. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth Edition. Churchill Livingstone. Chapter 157, 2000.
15. Markowitz M. Terapia Combinada para la Infección por VIH (IAPAC). International Association of Physicians in AIDS Care. *Medical Publications Corporation* 1997; 1-17.
16. Matija M. HIV. InSite Knowledge Base Chapter 2003; 3: 17-30.
17. Milton S. *Estadística para Biología y Ciencias de la Salud*. McGraw-Hill. España, 2002.
18. Ministerio de Sanidad y Consumo (MSC). Secretaría del Plan Nacional sobre el SIDA. Cuantificación de la carga vírica en la asistencia de los pacientes con infección por VIH. Venezuela. pp. 1-5, 2003.
19. Ogg G, Jin X, Bonhoeffer S. Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* 1998; 279: 2103-2108.
20. Paul M, Shearer W, Kozinetz C, Lewis D. Basic and Clinical immunology. Comparison of CD8+ T-cell subsets in HIV-infected rapid progressor children versus non-rapid progressor children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001; 108(2): 1-14.
21. Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA). Organización Mundial de la Salud (OMS). La Epidemia de SIDA . *Epidemiología en Venezuela del HIV*, 2002. Mundial de la Salud (OMS). La Epidemia de SIDA . *Epidemiología en Venezuela del HIV*, 2002.
22. Sleasman J, Goodenow M. Immunologic Disorders. HIV -1 infection. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003; 111 (2): 1-22.
23. Suárez J, Naranjo L. Abordaje, diagnóstico, tratamiento antirretroviral e inmunizaciones en el niño infectado con el VIH/SIDA. *Archivos de Historias Médicas*, Consulta de VIH/SIDA. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital -J.M. de los Ríos-. Diciembre 2002. pp. 1-12, 2003.
24. Van Rossum A, Fraaij P, Groot R. Efficacy of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infected children. *The Lancet Infectious Diseases* 2002; 2(2): 1-21.
25. Vigan A, Pinti M, Nasi M, Moretti L, Balli F, Mussini C, Bricalli D, Sala N, Burgarini R, Vella S, Principi N, Cossarizza A. Markers of cell death-activation in lymphocytes of vertically

HIVinfected S, Principi N, Cossarizza A. Markers of cell death-activation in lymphocytes of vertically HIVinfected

26. children naive to highly active antiretroviral therapy: The role of age. *Basic and clinical immunology*. 2001; 108(3): 1-13.