

Inmunoterapia y vacunas terapéuticas en la infección por VIH

Felipe García^a, Lidia Ruiz^b, Juan Carlos López-Bernaldo de Quirós^c, Santiago Moreno^d y Pere Domingo^e

^aServicio de Enfermedades Infecciosas. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Universidad de Barcelona.

^bUnitat VIH i Laboratori de Retrovirologia IrsiCaixa. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. ^cHospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

^dServicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. ^eServicio de Medicina Interna. Hospital de Sant Pau. Barcelona. España.

El desarrollo de resistencia a la medicación, la aparición de efectos adversos a medio y a largo plazo y el elevado coste económico constituyen importantes limitaciones para el cumplimiento de por vida del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA). Se ha propuesto la combinación de TARGA con inmunoterapias para restaurar y/o potenciar las respuestas inmunes frente al VIH, con el último propósito de controlar la replicación viral en ausencia de TARGA durante períodos prolongados de tiempo. Los defectos funcionales de las respuestas celulares y humorales, así como la interrelación entre ellas explicarían la falta de control por parte del sistema inmunológico de la replicación viral. Se han investigado distintos tipos de terapias inmunomediadas para solucionar los problemas antes mencionados, entre ellas la inmunoterapia pasiva, la utilización de citocinas, las interrupciones estructuradas de tratamiento, la utilización de inmunosupresores y las vacunas terapéuticas. Los todavía limitados conocimientos de que se dispone acerca de los mecanismos inmunológicos capaces de controlar la replicación viral del VIH y de las causas del deterioro de la inmunidad celular y humoral han producido modestos beneficios de las terapias inmunomediadas obtenidos hasta la actualidad, y en una escasa o ninguna aplicabilidad en la práctica clínica diaria, quedando, hoy por hoy, confinados al campo de la investigación. La disponibilidad de una óptima vacuna terapéutica sería un gran avance científico, comparable a la llegada de los inhibidores de la proteasa a la práctica clínica, por lo que actualmente debe ser una línea prioritaria de investigación.

Palabras clave: Inmunoterapia. VIH. Vacunas terapéuticas.

Immunotherapy and therapeutic vaccines in HIV infection

Resistance to medication, adverse effects in the medium-long term, and cost are important limitations to lifelong adherence to highly active antiretroviral therapy (HAART). The combination of HAART with immune

therapy to restore and/or boost immune-specific responses to HIV has been proposed, with the ultimate aim of controlling viral replication in the absence of HAART over long periods. The functional defects of the cellular and humoral responses and the relationship between these would explain the lack of control of the immune system over viral replication. Different types of immune-mediated therapy have been investigated to solve these problems, including passive immune therapy, cytokines, structured treatment interruptions, immunosuppressors and therapeutic vaccines. Our still limited knowledge of immune mechanisms which can control HIV viral replication and of the causes of the deterioration of cellular and humoral immunity have produced only modest benefits in immune-mediated therapy (of little use in clinical practice), and are therefore confined to research for the time being. The availability of an optimal therapeutic vaccine would be an important scientific advance which could be compared with the arrival of protease inhibitors in clinical practice. Therefore, priority should be given to research in this field.

Key words: Immunotherapy. HIV. Therapeutic vaccines.

Introducción

El advenimiento del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha disminuido significativamente la morbilidad y mortalidad asociada a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), incluso en aquellos pacientes afectados de trastornos definitivos de sida^{1,2}. Este beneficio se alcanza por un incremento del número absoluto de linfocitos T CD4 circulantes vírgenes, una concomitante reducción de los linfocitos T con marcadores de activación, y una restauración de respuesta a antígenos de recuerdo³. Sin embargo, aun a pesar de la eficacia clínica del TARGA^{4,5}, este tratamiento por sí mismo es incapaz de erradicar la infección incluso si se administrara durante más de 60 años^{6,7}. Esta limitación se debe principalmente a que la terapia no puede eliminar el VIH-1 latente en forma de ADN proviral integrado, así como por la existencia de niveles crípticos y bajos de replicación viral incluso que permite la infección célula-célula^{8,9}. Además, el TARGA es incapaz de restaurar la respuesta inmunespecífica frente al VIH^{10,11}, de hecho provoca un descenso de la respuesta de los linfocitos T ci-

Correspondencia: Dr. F. García.
Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínic.
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: fgarcia@medicina.ub.es

totóxicos (CTL) específica frente al VIH por la falta de exposición antigénica¹² y, recientemente, se ha descrito que la respuesta proliferativa helper frente a antígeno p24 del VIH que presentan algunos pacientes con TARGA, no refleja una mejoría en el inmunofenotipo o función ni de células CD4 ni de CD8, sino que es secundario a los pequeños incrementos en viremia típicamente observados en pacientes con TARGA¹³. Todo esto explicaría el rápido “rebote” de la carga que ocurre tras la suspensión de TARGA, en cuestión de días o semanas, incluso tras varios años de terapia efectiva^{14,15}. Dicho rebote ocurre incluso si el TARGA se instaure en pacientes infectados por VIH-1 en estadios muy tempranos de la infección, cuando el sistema inmunitario está todavía teóricamente muy preservado (linfocitos T CD4+ circulantes > 500 cél./ml; carga viral plasmática [CVP]: 5.000-10.000 copias/ml). De igual manera, esta dinámica viral ocurre incluso al alcanzar una restauración inmunitaria prácticamente completa en términos de homeostasia de los linfocitos T y sus subpoblaciones, y de la capacidad de respuesta a estímulos policlonales y antígenos de recuerdo con el TARGA^{14,16}.

Estos hallazgos refuerzan la necesidad de tratamiento a largo plazo y de manera adecuada. El desarrollo de resistencia a la medicación, la aparición de efectos adversos a medio y largo plazo y el elevado coste económico constituyen importantes limitaciones para el cumplimiento de por vida de esta terapia¹⁷. Ante esta preocupante situación, es urgente evaluar nuevas estrategias terapéuticas. Las dos posibilidades que se están investigando actualmente son la simplificación de los tratamientos¹⁸ y la combinación de TARGA con inmunoterapia, capaces de restaurar y/o potenciar tales respuestas con el objetivo principal de controlar la replicación viral en ausencia de TARGA¹⁰. La idea es que los períodos de tiempo sin TARGA serían más prolongados si se utilizan estrategias previas a la retirada del TARGA encaminadas a estimular el sistema inmunológico con el objetivo de controlar parcialmente la replicación viral tras la retirada del TARGA¹⁰.

Bases patogénicas para el diseño de estrategias inmunomediadas

La principal pregunta a responder es si el sistema inmunológico es capaz de contener la replicación viral, aunque sea por períodos de tiempo limitados en ausencia de TARGA. Dicha hipótesis surge de las siguientes evidencias:

1. Aunque en la mayoría de individuos infectados la replicación del VIH-1 causa la destrucción progresiva del sistema inmunológico y evoluciona fatalmente hacia el sida, hay una pequeña proporción de individuos inmunológicamente “privilegiados”, no progresores de larga duración (LTNP, de *Long term non progressors*), caracterizados por presentar una potente y sostenida respuesta de células T helper (Th) y CTL anti-VIH-1 y anticuerpos anti-VIH-1 neutralizantes, y ello asociado con un control de la replicación viral y presencia de concentraciones de virus en plasma, en ausencia de TARGA, muy bajas o indetectables¹⁹.

2. La respuesta citotóxica (CTL) anti-VIH-1 se detecta en todos los casos estudiados durante la fase aguda de la infección, y se cree que su actividad es la que causa el declive del fuerte pico de carga viral (CV) plasmática que la caracteriza, hasta llegar al llamado nivel de estabiliza-

ción (*setpoint*) de la CV plasmática, que se establece al final de dicha fase aguda de la infección. Datos directos acerca del papel crítico que tiene la respuesta CTL en el control de la replicación viral se han obtenido tanto en el modelo de infección en macacos desprovistos de linfocitos T CD8+^{20,21}, como en el modelo del ratón inmunodeficiente²².

3. Existe una clara evidencia de que una respuesta Th específica frente al VIH es crucial para conseguir una óptima respuesta CTL específica frente al virus, capaz de controlar la replicación viral, tanto en seres humanos^{10,23} como en modelos animales²⁴. Este concepto es consistente con otros datos recientemente aportados en infecciones virales crónicas en el modelo murino²⁵.

4. Estudios en modelos de primates y murinos muestran que concentraciones elevadas de anticuerpos neutralizantes son capaces de bloquear la infección, con independencia de la ruta de exposición al virus²⁶.

A pesar de la importancia que tiene la respuesta inmunológica ante una infección, esta no es capaz de contener la replicación viral. Tienen que existir alteraciones del sistema inmunitario que permitan explicar esta incapacidad o disfunción. Aunque se pueden encontrar células CD4+ y CD8+ capaces de secretar interferón gamma (IFN- γ) en la mayoría de los pacientes infectados por VIH, las respuestas proliferativas de CD4 están normalmente ausentes^{11,23,27}, y las células CD8+ son defectivas en cuanto a su actividad citolítica²⁸⁻³⁰. Una de las explicaciones de estos déficits funcionales de las respuestas CD4 y CD8 sería que las funciones presentadoras de antígeno de las células dendríticas podrían estar deterioradas en estos pacientes, y esto podría contribuir a los defectos funcionales observados en las respuestas celulares Th1 y CTL^{31,32}. Es posible que la ausencia de una correcta proliferación y expansión de las respuestas CD4+ influya, a su vez, en la falta de actividad citolítica de las células CD8+^{27,33}. En los modelos animales existe un déficit claro en la secreción de citocinas por las células CD4+ que se instaure en el momento del pico de CV plasmática en la infección primaria³⁴. Por último, la infección selectiva de las células CD4+ específicas del VIH en individuos infectados explicaría por qué estas respuestas se pierden pronto en la infección por el VIH³⁵.

Por lo tanto, parece claro que las respuestas celulares y humorales, así como la interrelación entre ellas, son vitales para un correcto funcionamiento del sistema inmunológico. Los defectos vendrían dados por alteraciones de estas respuestas, más que por un escape viral. Se han ensayado distintos tipos de terapias inmunomediadas para intentar solucionar estos problemas, entre ellas la inmunoterapia pasiva, la utilización de citocinas, las interrupciones estructuradas de tratamiento, utilización de inmunosupresores y las vacunas terapéuticas (tabla 1). En esta revisión se trata de dar una visión resumida de todas estas aproximaciones.

Inmunoterapia pasiva

Se han investigado dos tipos de inmunoterapia pasiva en pacientes infectados por el VIH. El primer tipo se ha basado en la infusión de células, tanto CD4+ como CD8+, y

TABLA 1. Terapias inmunomediadas utilizadas en la infección por VIH-1

Estrategia	Referencia
<i>Inmunoterapia pasiva</i>	
Con inducción de linfocitos	124
Infusión de plasma	36, 37, 39 40
Infusión de anticuerpos monoclonales	43, 45, 46, 52
<i>Citocina</i>	
Interleucina 2	53, 56
Dosis baja de interleucina 2	125
Factor estimulante de colonias macrocíticas (G-CSF)	126
Factor estimulante de colonias granulocíticas y macrocíticas (GM-CSF)	127
Interferón α (IFN- α)	128
IL-10	129
IL-12	130
IL-15	131
IL-16	132
IL-7	133
<i>Interrupción estructurada del tratamiento</i>	
Primoinfección	74
Infección crónica	79, 82
<i>Inmunosupresores</i>	
Hidroxiurea	78, 99
Corticoides	134
Ciclosporina A	135
Ácido micofenólico	101, 102
Talidomida	136
<i>Vacunas terapéuticas</i>	
Virus inactivado completo	137
Canarypox	120
Vacunas de ADN	123, 138
Vacunas de adenovirus recombinantes	139
Vacunas de células dendríticas	113, 116

el segundo en la infusión de plasma o anticuerpos neutralizantes.

Inmunoterapia pasiva mediante la infusión de células

Se han realizado diversos estudios consistentes en la infusión de células CTL específicas con resultados hasta ahora poco prometedores³⁶⁻³⁸. Brodie et al^{39,40} investigaron la actividad funcional de las células CTL específicas para el VIH y la capacidad de estas células efectoras para migrar *in vivo* a las áreas de infección. Brevemente, estos autores expandieron clones de CTL autólogos específicos del VIH *gag in vitro* y los inyectaron a pacientes infectados por el VIH. Las CTL transferidas retenían su actividad lítica *in vivo*, acumulándose en territorios adyacentes en donde se encontraban las células infectadas por el VIH, en los ganglios linfáticos y reduciendo de forma transitoria los niveles circulantes de células CD4+ infectadas por el VIH. Aparte de expandir CTL e infundirlas, otros grupos han intentado perfundir células CD4+ expandidas *in vitro* mediante una estrategia que permite conservar solo aquellas libres de virus⁴¹. Tras la infusión de estas células se observó una moderada mejora en la cifra de linfocitos CD4+ con una reducción del correceptor CCR5, lo que implica una relativa disminución en la capacidad infectiva de estas células. En resumen, las terapias pasivas basadas en la transferencia de células que se han realizado hasta

la actualidad son todavía muy experimentales, y han servido para conocer mejor la inmunopatogenia de la enfermedad sin aplicación clínica inmediata.

Inmunoterapia pasiva de plasma o anticuerpos neutralizantes

Por el contrario, la inmunoterapia pasiva de plasma (PIT) y anticuerpos neutralizantes monoclonales nació hace muchos años (aunque en la actualidad no se utiliza) con el propósito de aplicarla en la práctica clínica diaria. La inmunoterapia pasiva de plasma como arma terapéutica para tratar a los pacientes con sida se investigó durante la primera mitad de la década de los noventa del siglo pasado. Fue iniciada y propuesta por Abraham Karpas, virologo de la Universidad de Cambridge, publicando sus primeros resultados en 1988. Consistió en la infusión intravenosa a pacientes avanzados con sida de plasma procedente de pacientes infectados por el VIH asintomáticos. En este primer estudio se realizó un infusión mensual de 500 ml de plasma durante 3 meses a 10 pacientes avanzados (7 con sida y 3 con ARC, "complejo sindrómico asociado al sida", según criterios clasificatorios de la época). El plasma fue previamente inactivado con propiolactona, para eliminar la infectividad del virus del donante. Los resultados mostraron que la PIT negativizó la antigenemia p24 de los pacientes receptores, aumentó la actividad neutralizante en los receptores y no se produjeron efectos adversos⁴². Poco después (1990), Karpas demostró la eficacia de tal protocolo de PIT al observar reducciones en la carga viral circulante⁴³. En este segundo estudio, también se demostró que la infusión mensual del plasma incrementaba y mantenía a un alto grado la actividad neutralizante del suero de los pacientes receptores. La hipótesis que se originó a partir de estos trabajos fue que los pacientes infectados por el VIH asintomáticos contenían en su suero, elevadas concentraciones de actividad neutralizante del virus, actividad que desaparecía a medida que los pacientes progresaban hacia fase de sida, concluyendo que tal actividad neutralizante se correlacionaba con la no progresión hacia sida, y postulando, por tanto, que la transferencia pasiva de estos anticuerpos presentes en el plasma de los pacientes asintomáticos ayudaría a los pacientes receptores a controlar y enlentecer la progresión de su inmunodeficiencia⁴⁴. Dado que en esta época no existía ningún tipo de tratamiento frente a la infección, estos estudios suscitaban gran interés sobre la PIT como posible arma terapéutica, por lo que pronto se formaron grupos de estudio sobre la PIT. Se iniciaron así ensayos clínicos aleatorizados doble ciego y controlados con placebo, con un gran número de casos, dirigidos por dos grupos independientes, uno en California⁴⁵ y otro en París⁴⁶. En el ensayo clínico de California⁴⁵ se estudiaron 220 pacientes con sida con células T CD4+ entre 50 y 200/ μ l y que se aleatorizaron en tres grupos para recibir a lo largo de 12 meses una infusión mensual de: a) 500 ml de plasma hiperinmune en un período de 12 meses; b) la mitad de la dosis de plasma (250 ml de plasma diluido hasta 500 ml con seroalbúmina humana al 5%), y c) 500 ml de seroalbúmina al 5%, como placebo. Se observó que se reducía la mortalidad y se incrementaba el número de CD4 respecto al grupo que recibió el placebo, así como respecto al grupo que recibió la mitad de la dosis plasmática. En el ensayo clínico del grupo francés se incluyeron 86 pacientes con sida y se aleato-

rizaron en dos grupos para recibir durante 12 meses una infusión quincenal de: a) 300 ml de plasma hiperinmune, y b) 300 ml de plasma de donantes sanos (no inmune) como placebo. El grupo tratado mostraba una menor incidencia de eventos clínicos definitivos de sida ($p = 0,009$), una menor acumulación de dichos eventos (3 veces inferior), así como una menor tasa de mortalidad ($p = 0,009$). La conclusión de ambos estudios fue clara, en el sentido de que la infusión de plasma procedente de pacientes no avanzados a pacientes avanzados carecía de efectos adversos y era un tratamiento clínicamente útil para “frenar” la progresión de la enfermedad. Posteriormente, los ensayos clínicos sistemáticos y controlados con PIT se han abandonado prácticamente dada la eficacia de los agentes antirretrovirales aparecidos en durante esas fechas.

Recientemente ha resurgido el interés de la inmunoterapia pasiva, pero con anticuerpos monoclonales específicos, basados en los estudios en el modelo de macacos, que demuestran que la transferencia pasiva de anticuerpos previene la infección por inoculación del virus por vía oral, vaginal o intravenosa⁴⁷⁻⁵⁰. Este interés actual por los anticuerpos como potencial arma terapéutica o preventiva se empieza también a reflejar en el campo de la clínica humana. Se han iniciado ensayos de fase I en pacientes infectados para evaluar la farmacocinética y seguridad de dos anticuerpos monoclonales humanos (denominados 2F5 y 2G12), derivados hace ya años, de 2 pacientes no progresores, con capacidad única, respecto al resto de otros anticuerpos monoclonales humanos, de inhibir *in vitro* la infección tanto por cepas R5 como por cepas X4⁵¹. Recientemente, un estudio ha mostrado que la administración de un anticuerpo neutralizante llamado TNX-355 produjo cierta eficacia antiviral (un descenso de 0,5-1 \log_{10}) y aumento de los linfocitos CD4+. Este efecto persistió en los pacientes hasta 4 semanas tras la infusión del anticuerpo⁵². De confirmarse la eficacia de tales anticuerpos monoclonales en humanos *in vitro* y en animales de experimentación, es probable que dentro de unos años sean de gran utilidad clínica, pero de momento sólo constituyen una posibilidad prometedora.

Citocinas

Se han realizado numerosos trabajos y ensayos clínicos que utilizan diversas citocinas (tabla 1), todos con el objetivo de restaurar el desequilibrio de las citocinas, causado por la infección por el VIH, y controlar de manera adecuada la infección a través de anticuerpos neutralizantes y sobre todo por las células CTL específicas. Los mejores candidatos a ser utilizados en seres humanos son la IL-2, IL-12, IL-15, la hormona de crecimiento (GH) y el factor estimulante de colonias macrocíticas y granulocíticas (GM-CSF).

La infusión de IL-2 con diferentes estrategias, dosis y vías de administración provoca un incremento claro en la cifra de linfocitos CD4⁺^{53,54}. La dosis más recomendada en la actualidad es de 4,5M U/cada 12 h durante 5 días. En general se utiliza una fase de inducción con 6 ciclos de 5 días de duración cada 8 semanas y una fase de mantenimiento con un número de ciclos variables si hay un nuevo descenso de CD4. La toxicidad es dependiente de la dosis con una frecuencia de efectos adversos grado 3-4 inferior al 10%. Los efectos adversos locales más descritos son nódulos y ampollas en puntos inyección. Los efectos adversos

sistémicos más frecuentes son un síndrome seudogripal (90% de los pacientes), lesiones cutáneas (60%), trastornos gastrointestinales, edemas, trastornos del sistema nervioso central (SNC), respiratorios y endocrinos. Otros efectos secundarios poco frecuentes (< 10%) son citopenias, alteraciones electrolíticas, trastornos cardiovasculares en forma de arritmias, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiopatía isquémica e hipotensión. Es el fármaco utilizado como inmunoterapia que más ha sido estudiado y más ha avanzado en su desarrollo clínico. Sin embargo, tras varios años de investigación, no está claro todavía si este incremento afecta de forma positiva a la progresión clínica de la enfermedad, aunque existen estudios en marcha que intentan responder a estas preguntas.

Aparte del aumento en la cifra total de linfocitos CD4+, la IL-2 al menos se ha utilizado con otros tres objetivos diferentes:

1. La primera sería como citosina que intenta restaurar el repertorio de células T, al aumentar la cifra total de linfocitos CD4+. Es conocida que la progresión de la infección por el VIH está asociada con una pérdida más rápida de células vírgenes que de memoria. El control inmunitario de las infecciones virales depende de que las células inmunocompetentes tengan un amplio repertorio, y la infección por el VIH produce pérdidas de partes importantes de este repertorio. La administración de IL-2 está asociada a incrementos policlonales tanto de células vírgenes como de memoria en personas infectadas por el VIH, pero los análisis de TCR han demostrado que los defectos en el repertorio no se corrigen por la administración de IL-2⁵⁵.

2. Se ha propuesto, por lo tanto, la utilización conjunta de IL-2 y otras terapias inmunomediadas para intentar restaurar la disfuncionalidad de la respuesta Th (quizá por una falta de suficiente IL-2 endógena) de los pacientes infectados por el VIH. Sin embargo, en varios ensayos clínicos piloto no se ha demostrado la utilidad de la IL-2, al menos cuando esta se asocia a interrupciones estructuradas de tratamiento^{56,57}, o a una vacuna canarypox (ALVAC-HIV vCP 1433)⁵⁸.

3. Por último, hace unos años se intentó eliminar el virus de los reservorios mediante la estimulación de IL-2 de células quiescentes infectadas por el VIH que al estimularse producirían virus, pero que se inactivarían con la presencia de TARGA. En un ensayo clínico los pacientes que recibieron TARGA e IL-2 mostraron una menor cantidad de virus infecciosos detectables que el grupo control, que sólo recibía TARGA⁵⁹. Sin embargo, al retirar el tratamiento en ambos grupos el rebote de la carga viral siguió una dinámica similar, lo que sugería que la IL-2 tuvo poco efecto en el reservorio viral⁶⁰.

Se ha propuesto la utilización de otras citocinas en clínica humana (tabla 1). Entre ellas destacan la IL-12 y la IL-15. Su uso produce un aumento de la respuesta CTL específica *in vitro*⁶¹⁻⁶³. Ambas citocinas se producen preferentemente en las células presentadoras de antígenos activadas y se piensa que promueven el desarrollo de respuestas celulares tipo Th-1. Este tipo de respuestas son esenciales para estimular las respuestas CTL. Otros efectos de estas citocinas serían aumentar la actividad lítica por parte de células *natural killer* (NK) y aumentar la capacidad proliferativa específica frente al VIH⁶²⁻⁶⁴. Petrovas

et al⁶⁵ han presentado recientemente que IL-15, administrada 2 veces a la semana durante 4 semanas a macacos *Cynomolgus* infectados con el SIV, incrementó la proliferación y expansión de células CD8+ sin afectar a la replicación viral.

Se ha sugerido que la utilización clínica de la GH podría aplicarse en pacientes con infección por el VIH para promover la respuesta de células T, generar un efecto linfopoyético, así como inducir también efectos en las células T periféricas, por lo que parecería ser un apropiado agente inmunomodulador en estados de inmunodeficiencia. En pacientes infectados por el VIH tratados con GH se ha observado además un marcado incremento en la masa tímica. Este incremento estuvo acompañado por un aumento significativo en el número de células T CD4 vírgenes, un incremento en la respuesta CD4 y CD8 específica contra el VIH y una inducción en la diferenciación de las células T a células efectoras de memoria funcionales^{66,67}. Estos resultados sugieren que la GH provoca un aumento en la timopoyesis, y por lo tanto posee efectos importantes sobre el sistema inmunitario humano, incluyendo la reversión de la atrofia tímica en adultos infectados por el VIH-1.

Por último, se ha intentado utilizar GM-CSF junto a interrupciones del tratamiento, observándose una ligera mejoría en el control virológico y un menor descenso de linfocitos CD4+ tras la interrupción definitiva del tratamiento. No obstante, los resultados son actualmente inaceptables desde el punto de vista de la toxicidad del fármaco, dado que más del 80% de los pacientes mostraron reacciones locales y generales⁶⁸.

Interrupción estructurada del tratamiento

Desde los casos anecdóticos presentados por los grupos de Franco Lori y Douglas Nixon^{69,70}, el concepto de interrupción del tratamiento antirretroviral (TAR) como estrategia terapéutica ha sido investigado con gran interés por diferentes grupos. En un principio esta estrategia se consideró como una "autovacunación" con un virus autólogo atenuado, en el que la atenuación vendría dada por la reintroducción pautada del TAR. Con el tiempo, otros objetivos para la utilización de las interrupciones estructuradas del TAR que inicialmente tenían menos importancia (como puede ser el ahorro de medicación, reducción de efectos secundarios, etc.) han pasado a un primer plano, siendo estas estrategias unas de las que en la actualidad más activamente se están investigando⁷¹. No obstante, es importante destacar que una de las preocupaciones más importantes en la aplicación de las interrupciones estructuradas del TAR en pacientes infectados por el VIH en tratamiento es el riesgo de seleccionar resistencias⁷². En esta revisión no nos ocuparemos ni de este último tipo de interrupciones de tratamiento ni de las llamadas "vacaciones terapéuticas" utilizadas en pacientes en fracaso terapéutico⁷³, sino que nos centraremos en las interrupciones estructuradas del TAR como estrategia inmunomediada.

Resultados obtenidos de diversos estudios demuestran que las interrupciones estructuradas de terapia, en pacientes que iniciaron el TAR en la fase aguda de la infección por el VIH permiten controlar la replicación viral transitoriamente, resaltando el potencial intrínseco del sistema inmunitario para controlar de forma adecuada la

enfermedad⁷⁴. Sin embargo, estos datos no se confirmaron por otros grupos⁵⁶, y sí se ha observado que la eficacia virológica de las interrupciones estructuradas del TAR iniciadas en el momento de la infección aguda se pierde con el tiempo, por lo que actualmente necesita investigarse si el comienzo de tratamiento durante (con o sin interrupción) la fase aguda de la infección puede ser beneficioso para los pacientes a largo plazo⁷⁵.

La reexposición a antígenos virales potencia y estimula respuestas inmunitarias específicas frente al virus; sin embargo, en pacientes crónicamente infectados que realizan esta estrategia de tratamiento, únicamente el 20% de ellos logran alcanzar un efectivo control de la replicación viral a corto y medio plazo⁷⁶⁻⁸². Es importante entender por qué existe una falta de control de la replicación viral a pesar de la inducción de respuestas Th y CTL en los pacientes infectados por VIH crónicos. Estas conclusiones pueden servir para diseñar otras estrategias inmunomediadas que permitan un control de la replicación viral más efectivo y durante un mayor período de tiempo.

1. En primer lugar, en la interrupción de tratamiento se pueden observar, en algunos pacientes, picos muy elevados de carga viral, y dado que los células CD4+ con respuesta específica para el VIH son las que se infectan más tras el rebote de la CV^{35,83}, se podría producir una eliminación clonal de estas células, lo cual explicaría quizá la falta de respuesta^{84,85}. Recientemente, Plana et al⁸⁶ han estudiado un grupo de 40 pacientes que han realizado terapia intermitente. En estos pacientes se demuestra que la respuesta Th es inducida de forma débil durante los ciclos de interrupción, y se pierde durante la interrupción definitiva del tratamiento. Esto explicaría la incapacidad de la respuesta CTL para controlar la replicación viral⁸⁷⁻⁸⁹. Al contrario de la respuesta *helper*, la respuesta CTL es inducida de forma importante (tanto en magnitud como en amplitud) tras la interrupción definitiva de TAR^{77,78}, pero es incapaz de controlar la replicación viral. Se ha descrito que los CTL inducidos tras la interrupción del tratamiento no serían funcionales (se encontrarían en un estado preterminal y producirían menos perforinas), lo que los autores atribuyen a la pérdida de una respuesta específica Th la incapacidad de estas estrategias de estimular una respuesta CTL eficaz⁹⁰. Se podría prever que estrategias encaminadas a evitar la delección clonal de las células T con capacidad de una respuesta específica Th frente al VIH, provocada por las interrupciones del tratamiento antirretroviral, podrían mejorar el control de la replicación viral a través de la inducción de una respuesta específica CTL funcional.

2. En segundo lugar, muchos autores han aportado datos mediante secuenciación y clonación del gen *env* que sugieren que en un rebote de la CV el virus que aparece puede ser muy diferente del observado en otros rebotes o el que aparecía en el momento basal antes de comenzar ningún tratamiento⁹¹⁻⁹³ y que la inmunidad específica que se recupera tan sólo es un aumento de la que ya estaba previamente^{77,94}, probablemente debido a que se exponen repetidamente al mismo antígeno⁹⁵. Esta movilización de virus procedentes de diferentes reservorios, y la incapacidad de crear una nueva respuesta específica serían las causas que impedirían un control eficaz de la replicación viral. Por lo tanto, se deberían utilizar inmunógenos ca-

paces de inducir nuevas respuestas específicas frente al VIH eficaces, tanto funcionalmente, ya que evitaría la desaparición clonal de células Th y mejoraría la respuesta CTL, como en amplitud, que fueran capaces de controlar la replicación de virus ancestrales, presentes en células memoria, que acabarían replicando al interrumpir el TARGA.

Inmunosupresores

Paralelamente a la disminución en el recuento de linfocitos CD4, la infección por el VIH se caracteriza por un intenso y sostenido estado de activación inmunitaria manifestada por un elevado recambio de linfocitos T, B, células NK, así como por una elevada liberación de citocinas proinflamatorias como IL-7 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)¹⁰. Un constante elemento de este proceso lo constituye el elevado recuento de clones de T-CD8 activados que expresan receptores de superficie, DR+/CD38+, fenómeno considerado hoy día un fiel marcador de progresión de la enfermedad^{96,97}. Este proceso sostenido de activación puede conducir a un agotamiento del sistema inmunitario, al igual que a un aumento en la infectividad celular, permitiendo su diseminación. Este fenómeno de activación inmunitaria sienta las bases para la utilización de fármacos inmunosupresores como corticoides, hidroxiurea, micofenolato mofetil (MMF), talidomida y ciclosporina A, como adyuvantes al TAR.

Resultados obtenidos sobre el control de la viremia en macacos, tratados desde la infección aguda por el virus de la inmunodeficiencia en simios (SIV), usando como adyuvante hidroxiurea, y ciclos de interrupción del tratamiento, conducen a pensar en este fármaco como futuro inmunosupresor de utilidad clínica⁹⁸. Este hecho llevó a formular la hipótesis de que el uso de la hidroxiurea inhibe la activación de linfocitos T durante los ciclos de interrupción del tratamiento, impidiendo la infección de células diana, y la producción a su vez de altos picos de replicación viral sin abolir la respuesta inmunitaria específica. Aunque es bien conocido y clínicamente comprobado que la hidroxiurea inhibe la enzima ribonucleótido-reductasa^{98,99}, esta también induce un efecto citostático al detener el ciclo celular al inicio de la fase S, así como una disminución en la activación celular. Esta última propiedad constituye el fundamento que llevó a García et al⁷⁸ a evaluar la utilidad de este fármaco en pacientes a quienes se les programaron interrupciones intermitentes del TARGA. Se programaron 5 ciclos de interrupción de 2 semanas de duración, pero continuando sólo tratamiento con hidroxiurea durante los 2 últimos ciclos de interrupción. Este esquema permitía evaluar el efecto de la hidroxiurea en la dinámica viral entre ciclos de interrupción con o sin el fármaco. De tal forma, si esta logra disminuir la fase inicial del rebote de la CV, originado desde los reservorios, linfocitos en reposo, macrófagos, células dendríticas, donde se ha demostrado que la hidroxiurea constituye una excelente monoterapia¹⁰⁰, su efecto podría observarse aun cuando esta se dejara de administrar. En segundo lugar, la hidroxiurea puede entretener fases posteriores de la replicación viral provenientes de linfocitos T activados, que se debería primordialmente a sus efectos citostáticos. En tal caso, el control de la replicación viral sólo se obtiene manteniendo la hidroxiurea cuando se retira el TARGA. No existieron diferencias en el rebote de carga viral tras

3 ciclos de interrupción del TARGA. Sin embargo, cuando la hidroxiurea se mantuvo después de la interrupción del TARGA la CV fue en promedio 1 log menor que la obtenida en previos ciclos de interrupción y menor que en el grupo control, tratado sólo con TARGA. Este fenómeno demuestra la actividad citostática de la hidroxiurea y su potencial utilidad frente al reservorio viral intracelular. Desde el punto de vista clínico, el uso de la hidroxiurea aumentó de manera significativa la proporción de pacientes que lograron controlar la replicación viral (8/9 pacientes con carga viral < 5.000 copias ARN/ml) de manera sostenida durante 48 semanas tras 5 ciclos de interrupción de TARGA, independientemente de la carga viral basal (log_{4,6} ARN VIH).

Otros grupos han estudiado la capacidad de otros inmunosupresores como el ácido micofenólico como adyuvantes del TARGA. Chapuis et al¹⁰¹ estudiaron los mecanismos *in vitro* e *in vivo* por los cuales el MPA y su derivado esterilico micofenolato mofetil (MMF) suprimía la infección por el VIH. El MPA inhibe selectivamente la síntesis de nucleótidos de guanosina al inhibir de manera competitiva la enzima monofosfato de inosina deshidrogenasa. Dado que no existen vías enzimáticas alternativas para la síntesis de nucleótidos de guanosina en los linfocitos, el MPA produce un profundo efecto citostático por depleción de este sustrato. Además, resultados *in vitro* demuestran que el MPA inhibe la proliferación de células T activadas, sobre todo en aquellas con expresión intermedia o baja del receptor CD4, llevándolas a la apoptosis incluso en presencia de IL-2. Estos datos se confirmaron en un ensayo clínico en pacientes tratados con abacavir y amprenavir, los cuales fueron aleatorizados a recibir o no MMF¹⁰¹. En el grupo tratado con MMF se observó una reducción en el reservorio de CD4 y CD8 en activa división (Ki67+). Además los autores sugieren que el MMF puede ejercer un efecto en el reservorio de células CD4 latentemente infectadas, ya que observaron que en los pacientes tratados con MMF se redujo la capacidad de aislar virus del total de la población de T-CD4. A pesar de que el MMF no afecta a las células en reposo y por tanto, no afecta al número de estas células, una vez estas células se activan en presencia de MMF se induce la apoptosis y muerte celular¹⁰¹. Otros autores han investigado el papel del MMF sobre la CV plasmática y en tejido linfoide durante y después de interrupciones intermitentes del TARGA¹⁰². Pacientes tratados al menos durante un año con un régimen que contenía abacavir fueron aleatoriamente asignados a recibir o no MMF junto con TARGA durante 4 meses previos a los ciclos de interrupción. Se observó que los pacientes tratados con MMF el reservorio de células T-CD4 en división disminuyó y de igual manera, el punto de estabilización (*set-point*) de CV tras la interrupción del TARGA. En este ensayo la linfoproliferación se evaluó la capacidad del suero de los pacientes de disminuir *in vitro* la respuesta de una línea celular T, a través de muestras secuenciales en distintos momentos después de la dosis de MMF. Los cambios obtenidos en la dinámica de la CV, especialmente el *set-point* al interrumpir el TARGA se observó exclusivamente en aquellos pacientes que disminuyeron la proliferación linfocitaria por debajo del 40% en la línea celular T (CEM) durante más de 4 h tras la administración de MMF. En otro contexto, el MMF se utilizó como parte de un esquema de rescate al añadirse como fármaco aislado a un

esquema TARGA de rescate que contenía abacavir en pacientes que poseían múltiples resistencias a antirretrovirales¹⁰³. Se observó una reducción significativa de la carga viral ($> \log_{0,5}$) en aquellos pacientes que aumentaron el cociente: Carbovir (el metabolito activo antiviral de abacavir) y trifosfato de desoxiguanosina, debido a la inhibición de la enzima ionosina monofosfato deshidrogenasa y, por ende, a la depleción de nucleótidos de guanosina.

Tras publicarse los resultados de un estudio piloto en pacientes con infección por el VIH aguda tratados con TARGA y ciclosporina A (CyA) a corto plazo se plantearon nuevas alternativas de tratamiento¹⁰⁴. El fundamento de este estudio consistía en disminuir el alto estado de activación celular y generar así una masiva replicación viral. Este estado de alta replicación viral determina un agotamiento clonal de linfocitos CD4-VIH específicos. A pesar que la CyA interfiere en la síntesis de las proteínas virales *gag*, su principal efecto lo ejerce a través de la inhibición de la proliferación y diferenciación de células T. Clínicamente, en los pacientes tratados con CyA se restauró el recuento de CD4, tanto en porcentaje como en números absolutos, manteniéndose a su vez la proporción de células CD4-VIH-IFN γ secretoras. Estos datos sugieren que la utilización de CyA o cualquier otro fármaco, con propiedades inmunosupresoras durante la primoinfección, podría disminuir el número de CD4 activos que sostienen la masiva replicación viral, y prevenir el secuestro de estos clones en tejido linfático, donde se produce la presentación antigénica y se perpetúa la infección por el VIH. Este proceso puede tener un impacto sobre el clon de células T en reposo que albergan virus con capacidad replicativa. Sin embargo, se desconoce si estas terapias pueden ofrecer un beneficio clínico en la infección a largo plazo, estableciendo un nuevo *set-point* inmunológico que puede enlentecer la tasa de progresión de la enfermedad.

Como se observa con los datos aportados por diferentes estudios existen muchas dudas sobre la utilización de inmunosupresores en la infección por el VIH como terapia inmunomediada. El conocimiento de los candidatos adecuados, el fármaco que se utilice, la duración y el momento óptimo para iniciar la terapia en el curso de la infección, son interrogantes que deben ser contestados a través de estudios clínicos que incluyan un mayor número de pacientes y con seguimiento a largo plazo. Además existen interrogantes sobre su seguridad a largo plazo, como la influencia en el desarrollo de enfermedades oportunistas o el desarrollo de enfermedades linfoproliferativas son aspectos preocupantes que limitan el uso extenso de este tipo de fármacos a largo plazo. Sin embargo, siguen siendo atractivas las estrategias farmacológicas que interfieran con el ciclo vital del VIH actuando sobre las células diana del virus, más que a través de la inhibición de enzimas virales, lo que ofrece la ventaja de evitar el desarrollo de mutaciones en el genoma viral frente a fármacos antivirales. La evaluación del uso de fármacos inmunosupresores adyuvantes al TARGA debe proseguir con cautela hasta conocer datos sobre eficacia y seguridad clínica a largo plazo.

Vacunas terapéuticas

La recuperación inmunológica de la respuesta frente al VIH también se ha intentado mediante la vacunación te-

rapéutica. En general, la capacidad de las vacunas utilizadas para aumentar la respuesta específica CTL ha sido muy limitada y los resultados de los trabajos descorazonadores, con una falta de demostración de inmunogenicidad y sin un claro impacto en la CV¹⁰⁵⁻¹⁰⁹.

Una de las vacunas terapéuticas más estudiadas ha sido el Remune. Esta es una vacuna de un virus completo inactivado en la que la proteína de la envuelta le ha sido quitada durante el proceso de inactivación que ocurre para su síntesis. Esta vacuna se deriva de un virus originalmente obtenido en Zaire y contiene un envuelta tipo A y un *gag* tipo G. Se ha administrado a más de 3.000 personas que tenían un virus controlado con TAR. Los resultados mostraron que era capaz de inducir respuestas Th específicas a *gag* a veces muy potentes. Sin embargo, en estos estudios no se observó una capacidad de control inmunológico de la replicación viral¹¹⁰⁻¹¹². El estudio que mejor demuestra la capacidad de una vacuna terapéutica de incrementar la inmunidad específica de forma eficaz para el control de la replicación viral ha sido la utilización de una vacuna de células dendríticas en el modelo animal con infección por el SIV (SIVmac251). En este trabajo se efectuaron cuatro inmunizaciones con células pulsadas por el mismo virus durante un período de 8 semanas, una cada 15 días. En la mayoría de los animales inoculados (7/10) se produjo una disminución significativa en la CV plasmática a partir de la tercera inmunización y de manera sostenida, es decir, durante las 34 semanas del estudio. Se produjo una disminución de entre 50 y 1.000 veces, en la carga de ADN SIV y ARN SIV en sangre periférica, respectivamente. El análisis de tejido linfático reveló una correlación entre la disminución de las concentraciones de ADN y ARN SIV y el incremento de la respuesta celular T-SIV específica. El descenso de la CV y el consecuente aumento del recuento de CD4 se acompañó de un incremento en las concentraciones de anticuerpos circulantes¹¹³. Resultados muy parecidos se han obtenido en un modelo de ratones como vacunación preventiva por dos grupos independientes^{114,115}. A pesar de estos increíbles resultados, un ensayo clínico, realizado en 12 pacientes con infección crónica en TAR desde estadios tempranos de la infección, con vacuna de células dendríticas pulsadas con virus autólogo inactivado por calor ha ofrecido resultados mucho más moderados¹¹⁶. En este estudio, en una primera interrupción del tratamiento 18 meses antes de recibir la primera dosis de vacuna se realizaron tres plasmaféresis en el que se extrajeron 1.800 ml de plasma. La mediana de CV de los pacientes durante las plasmaféresis fue de 27.000 copias/ml. Posteriormente se inactivó el virus mediante calor y se concentró mediante ultracentrifugación en 1 ml, todo en condiciones de buena práctica clínica (GMP). Recibieron un esquema de 5 dosis subcutáneas cada 6 semanas. La primera dosis era un control de CD sin pulsar. Cada vacuna pulsada contenía 2×10^6 CD, pulsadas con 5 viriones por célula en la primera inmunización y 3 viriones/CD en las posteriores vacunaciones. En general, los resultados mostraron que fue una vacuna que no provocó efectos adversos importantes, ya que sólo en tres de las 60 dosis administradas (5%) se produjo una mínima reacción adversa (sólo hubo un episodio de reacción local ligera y dos de ligero cuadro gripal 24 h después de la dosis). Esta vacuna fue capaz de controlar parcial y transitoriamente la replicación viral, lo que se asoció con un incremento transitorio,

pero significativo de la respuesta linfoproliferativa al antígeno p24 del VIH, y con los cambios en la respuesta CTL específica para el VIH en periferia y en las células CTL en tejido linfático. En tejido linfático también se observó una tendencia a un mayor control de la replicación viral asociado a un incremento de células CD4+ y CTL en este tejido¹¹⁶. Por otro lado, no se observó un aumento significativo de la actividad neutralizante del suero de estos pacientes. A pesar de estos resultados moderados hay que tener en cuenta que la dosis de antígeno utilizada en el ensayo en seres humanos fue 1.000 veces inferior a la utilizada en macacos, por lo que son necesarios nuevos ensayos con una mayor dosis de antígeno. Si estos resultados se confirman sugerirían que el defecto del control inmunológico de la infección por VIH podría ocurrir por alteraciones en la fase de inducción de la respuesta inmunológica, lo que es consistente con estudios recientes de inducción de respuesta inmunológica en ausencia de respuesta Th^{117,118} y con datos que sugieren que las funciones presentadoras de antígenos están alteradas en pacientes infectados por VIH y esto podría contribuir a defectos funcionales en las respuestas Th y CTL específicas para el VIH^{31,32,119}.

Existen otros ensayos con vacunas como los realizados con ALVAC que es una vacuna que lleva como vector un canarypox recombinante. Kinloch et al¹²⁰ presentaron recientemente unos resultados muy esperados del estudio QUEST. Este estudio internacional se realizó en pacientes que comenzaron tratamiento durante la infección aguda. Después de una media de 2 años de control virológico, 79 pacientes fueron aleatorizados para recibir inmunización con ALVAC VcP1452, ALVAC más Remune, o placebo. Después de 24 semanas del período de inmunización, el TARGA fue interrumpido. No hubo diferencia entre los grupos en las dinámicas de rebote viral o en las cifras de CV 24 semanas después de la interrupción del tratamiento.

Recientemente se ha presentado otro estudio de vacunación terapéutica en pacientes primoinfectados por Cooper et al¹²¹. Después de una media de 4 años de TARGA, se aleatorizaron 35 personas con la replicación viral controlada a recibir una vacuna un vector de *fowlpox vector* sin secuencias del VIH, un vector que contenía secuencias *gag/pol*, o un vector que contenía secuencias *gag/pol* y un gen que codificaba IFN- γ humano. Sorprendentemente, no hubo muchas diferencias entre los grupos en cuanto a la presencia de células CTL medidas por ELISPOT o de respuestas citolíticas después de la vacunación y antes de la interrupción del tratamiento y en 10 pacientes no se interrumpió el tratamiento. No hubo diferencias en el control de la replicación viral entre el grupo placebo y el grupo vacunado con *gag/pol*. Sin embargo, los pacientes inmunizados con *gag/pol* e IFN- γ tenían un mejor control de la replicación viral, con una media de CV 0,8 log log₁₀ menor que los otros dos grupos. La ausencia de respuestas inmunológicas en los dos grupos vacunados es descorazonadora y la respuesta del grupo con IFN- γ es sorprendente.

Otros candidatos a ser utilizados como vacuna terapéutica son las vacunas basadas en ADN que incluyen las proteínas env-tat-nef. Esta vacuna se ha probado como vacuna preventiva con resultados prometedores mediante un sistema de inducir respuesta primaria con ADN e inducir el recuerdo con virus Ankara¹²². La vacuna probada como terapia presenta todo el genoma del VIH con una pérdida del gen de la integrasa y se ha administrado intradérmicamente en modelos de monos en combinación con STI con resultados prometedores¹²³.

Conclusiones

En la actualidad existen muchas limitaciones en los conocimientos que tenemos de los mecanismos inmunológicos de control de replicación viral del VIH, de las causas del deterioro de la inmunidad celular y humoral, a lo que se une una falta de métodos inmunológicos claros que se puedan correlacionar con un control inmunitario eficaz del VIH *in vivo*. La eficacia de las terapias inmunológicas y de las vacunas terapéuticas ha sido modesta en el mejor de los casos. Debemos aumentar los esfuerzos para comprender mejor los mecanismos de protección, el control virológico y el deterioro inmunológico. Sin estos conocimientos la posibilidad de una futura vacuna terapéutica eficaz está lejos, aunque dados los problemas de toxicidad y eficacia a largo plazo con los fármacos actuales es una línea de investigación que debe ser prioritaria en el campo del VIH.

Agradecimientos

Algunos de los estudios y datos han recibido el soporte de: Ministerio de Sanidad, Abbott Laboratories, Boehringer Ingelheim, Bristol Myers Squibb, GlaxoSmithKline, Merck Sharp and Dohme and Roche (FIPSE/ 01/36259; SAF 01/2591, Red Temática Cooperativa de Grupos de Investigación en Sida (RIS) del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS), maratón de TV3, Objectif recherche vaccin sida (ORVACS). Gracias a la Dra. Teresa Gallart, Dr. Emilio Fumero y Dra. Margarita Bofill por los comentarios y ayuda para la redacción del presente artículo.

Bibliografía

1. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1998;338:853-60.
2. Palella FJ, Deloria-Knoll M, Chmiel J, Moorman AC, Wood K, Greenberg AE. Survival Benefit of Initiating Antiretroviral Therapy in HIV-Infected Persons in Different CD4+ Cell Strata. *Ann Intern Med*. 2003;138:620-6.
3. Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science*. 1997;277:112-6.
4. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell life-span and viral generation time. *Science*. 1996;271:1582-6.
5. Perelson AS, Essunger P, Cao Y. Decay characteristics of HIV-1 infected compartments during combination therapy. *Nature*. 1997;387:188-91.
6. Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med*. 1999;5:512-7.
7. Blankson JN, Persaud D, Siliciano RF. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu Rev Med*. 2002;2002;53:557-93.
8. Zhang L, Ramratnam B, Tenner-Racz K, He Y, Vesanan M, Lewin S, et al. Quantifying residual HIV-1 replication in patients receiving combination antiretroviral therapy. *N Engl J Med*. 1999;340:1605-13.
9. Furtado MR, Callaway DS, Phair JP, Kunstman KJ, Stanton JL, Macken CA, et al. Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy. *N Engl J Med*. 1999;340:1614-22.
10. Letvin NL, Walker BD. Immunopathogenesis and immunotherapy in AIDS virus infections. *Nat Med*. 2003;9:861-6.
11. Plana M, García F, Gallart MT, Miró JM, Gatell JM. Lack of T-cell proliferative response to HIV-1 antigens after one year of HAART in very early HIV-1 disease. *Lancet*. 1998;352:1194-5.
12. Gamberg J, Barret L, Bowmer M, Howley C, Grant M. Factors related to loss of HIV-specific cytotoxic T lymphocyte activity. *AIDS*. 2004;18:597-604.
13. Lange C, Xu Z, Patterson BK, Medvik K, Harnisch B, Asaad R, et al. Proliferation responses to HIVp24 during antiretroviral therapy do not reflect improved immune phenotype or function. *AIDS*. 2004;18:605-13.

14. García F, Plana M, Vidal C, Cruceta A, O'Brien WA, Pantaleo G, et al. Dynamics of viral load rebound and immunological changes after stopping effective antiretroviral therapy. *AIDS*. 1999;13:F79-F86.
15. Ruiz L, Martínez-Picado J, Romeu J. Structured treatment interruption in chronically HIV-1 infected patients after long-term viral suppression. *AIDS*. 2000;14:397-403.
16. Plana M, García F, Gallart MT, Tortajada C, Soriano A, Palou E, et al. Immunological benefits of antiretroviral therapy in very early stages of asymptomatic chronic HIV-1 infection. *AIDS*. 2000;14:1921-33.
17. Martínez E, Mocroft A, García-Viejo M, Pérez-Cuevas J, Mallojas J, et al. A prospective cohort study on the risk for lipodystrophy in HIV-1 infected patients treated with protease inhibitor-containing regimens. *Lancet*. 2001;357:592-8.
18. Martínez E, Arnaiz J, Podzamer D, Dalmau D, Ribera E, Domingo P, et al. Substitution of Nevirapine, Efavirenz, or Abacavir for Protease Inhibitors in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med*. 2003;349:1036-46.
19. Rosenberg ES, Billingsley JM, Caliendo AM, Boswell SL, Sax PE, Kalams SA, et al. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia [see comments]. *Science*. 1997;278:1447-50.
20. Schmitz JE, Kuroda MJ, Santra S. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science*. 1999;283:857-60.
21. Metzner K, Jin X, Gettie A, Bauer DE, Di Mascio M, et al. Effects of *in vivo* CD8(+) T cell depletion on virus replication in rhesus macaques immunized with a live, attenuated simian immunodeficiency virus vaccine. *J Exp Med*. 2000;191:1921-31.
22. De Quiros JC, Shupert WL, McNeil AC, Gea-Banacloche JC, Flanigan M, Savage A, et al. Resistance to replication of human immunodeficiency virus challenge in SCID-Hu mice engrafted with peripheral blood mononuclear cells of nonprogressors is mediated by CD8(+) T cells and associated with a proliferative response to p24 antigen. *J Virol*. 2000;74:2023-8.
23. Day C, Walker BD. Progress in defining CD4 helper cell responses in chronic viral infections. *J Exp Med*. 2003;198:1773-7.
24. Hel Z, Nacsa J, Tryniszewska E, Tsai WP, Parks RW, Montefiori DC, et al. Containment of simian immunodeficiency virus infection in vaccinated macaques: correlation with the magnitude of virus-specific pre- and postchallenge CD4+ and CD8+ T cell responses. *J Immunol*. 2002;169:4778-87.
25. Kaech SM, Ahmed R. Immunology. CD8 T cells remember with a little help. *Science*. 2003;300:263-5.
26. Nishimura Y, Igarashi T, Haigwood NL, Sadjadpour R, Donau OK, Buckler C, et al. Transfer of neutralizing IgG to macaques 6 h but not 24 h after SHIV infection confers sterilizing protection: implications for HIV-1 vaccine development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:15131-6.
27. Pitcher C, Quittner C, Peterson D, Connors M, Koup RA, Maino VC, et al. HIV-1 specific CD4+ T cells are detectable in most individuals with active HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression. *Nat Med*. 1999;5:518-25.
28. Yokomaku Y, Miura H, Tomiyama H, Kawana-Tachikawa A, Takiguchi M, Kojima A, et al. Impaired processing and presentation of CTL epitopes are major escape mechanisms from CTL immune pressure in Human Immunodeficiency Virus type 1 infection. *J Virol*. 2004;78:1324-32.
29. Seder R, Ahmed R. Similarities and differences in CD4+ and CD8+ effector and memory T cell generation. *Nat Immunol*. 2003;4:835-42.
30. Yang O, Sarkis P, Trocha A, Kalams SA, Johnson RP, Walker BD. Impacts of avidity and specificity on the antiviral efficiency of HIV-1-specific CTL. *J Immunol*. 2003;171:3718-24.
31. Donaghy H, Gazzard B, Gotch F, Patterson S. Dysfunction and infection of freshly isolated blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients infected with HIV-1. *Blood*. 2003;101:4505-11.
32. Chehimi J, Campbell DE, Azzoni L, Bacheller D, Papanavvas E, Jerandi G, et al. Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J Immunol*. 2002;168:4796-801.
33. McNeil AC, Shupert WL, Iyasere CA, Hallahan CW, Mican JA, Davey RT Jr, et al. High-level HIV-1 viremia suppresses viral antigen-specific CD4(+) T cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:13878-83.
34. McKay PF, Barouch DH, Schmitz JE, Veazey RS, Gorgone DA, Lifton MA, et al. Global dysfunction of CD4 T-lymphocyte cytokine expression in simian-human immunodeficiency virus/SIV-infected monkeys is prevented by vaccination. *J Virol*. 2003;77:4695-702.
35. Douek DC, Brenchley J, Betts M, Ambrozak DR, Hill BJ, Okamoto Y, et al. HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature*. 2002;417:95-8.
36. Koenig S, Conley AJ, Brewah YA, Jones GM, Leath S, Boots LJ, et al. Transfer of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes to an AIDS patient leads to selection for mutant HIV variants and subsequent disease progression. *Nat Med*. 1995;1:330-6.
37. Lieberman J, Fabry JA, Shankar P, Beckett L, Skolnik PR. *Ex vivo* expansion of HIV type 1-specific cytolytic T cells from HIV type 1-seropositive subjects. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1995;11:257-71.
38. Tan R, Xu X, Ogg GS, Hansasuta P, Dong T, Rostron T, et al. Rapid death of adoptively transferred T cells in acquired immunodeficiency syndrome. *Blood*. 1999;93:1506-10.
39. Brodie SJ, Lewinsohn DA, Patterson BK, Jiyamapa D, Krieger J, Corey L, et al. *In vivo* migration and function of transferred HIV-1-specific cytotoxic T cells [see comments]. *Nat Med*. 1999;5:34-41.
40. Brodie SJ, Patterson BK, Lewinsohn DA, Diem K, Spach D, Greenberg PD, et al. HIV-specific cytotoxic T lymphocytes traffic to lymph nodes and localize at sites of HIV replication and cell death. *J Clin Invest*. 2000;105:1407-17.
41. Levine BL, Bernstein WB, Aronson NE, Schlienger K, Cotte J, Perfetto S, et al. Adoptive transfer of costimulated CD4+ T cells induces expansion of peripheral T cells and decreased CCR5 expression in HIV infection. *Nat Med*. 2002;8:47-53.
42. Karpas A, Hill F, Youle M, Cullen V, Gray J, Byron N, et al. Effects of passive immunization in patients with the acquired immunodeficiency syndrome-related complex and acquired immunodeficiency syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:9234-7.
43. Karpas A, Hewlett IK, Hill F, Gray J, Byron N, Gilgen D, et al. Polymerase chain reaction evidence for human immunodeficiency virus 1 neutralization by passive immunization in patients with AIDS and AIDS-related complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87:7613-7.
44. Karpas A, Gillson W, Bevan PC, Oates JK. Lytic infection by British AIDS virus and development of rapid cell test for antiviral antibodies. *Lancet*. 1985;2:695-7.
45. Levy J, Youvan T, Lee ML. Passive hyperimmune plasma therapy in the treatment of acquired immunodeficiency syndrome: results of a 12-month multicenter double-blind controlled trial. *Blood*. 1994;84:2130-5.
46. Vittecoq D, Chevreton S, Morand-Joubert L, Heshmati F, Audat F, Bary M, et al. Passive immunotherapy in AIDS: a double-blind randomized study based on transfusions of plasma rich in anti-human immunodeficiency virus 1 antibodies vs transfusions of seronegative plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;1994:1195-9.
47. Parren PW, Marx PA, Hessel AJ, Luckay A, Harouse J, Cheng-Mayer C, et al. Antibody protects macaques against vaginal challenge with a pathogenic R5 simian/human immunodeficiency virus at serum levels giving complete neutralization *in vitro*. *J Virol*. 2001;75:8340-7.
48. Hofmann-Lehmann R, Vlasak J, Rasmussen RA, Smith BA, Baba TW, Lisaka V, et al. Postnatal passive immunization of neonatal macaques with a triple combination of human monoclonal antibodies against oral simian-human immunodeficiency virus challenge. *J Virol*. 2001;75:7470-80.
49. Hofmann-Lehmann R, Rasmussen RA, Vlasak J, Smith BA, Baba TW, Lisaka V, et al. Passive immunization against oral AIDS virus transmission: an approach to prevent mother-to-infant HIV-1 transmission? *J Med Primatol*. 2001;30:190-6.
50. Mascola JR. Passive transfer studies to elucidate the role of antibody-mediated protection against HIV-1. *Vaccine*. 2002;20:1922-5.
51. Armbruster C, Stiegler GM, Vcelar BA, Jager W, Michael NL, Vetter N, et al. A phase I trial with two human monoclonal antibodies (hMAb 2F5, 2G12) against HIV-1. *AIDS*. 2002;16:227-33.
52. Kuritzkes DR, Jacobson J, Powderly WG, Godofsky E, De Jesús E, Haas F, et al. Antiretroviral activity of the anti-CD4 monoclonal antibody TNX-355 in patients infected with HIV type 1. *J Infect Dis*. 2004;189:286-91.
53. Kovacs JA, Vogel S, Albert JM, Falloon J, Davey RTJ, Walker RE, et al. Controlled trial of interleukin-2 infusions in patients infected with the human immunodeficiency virus [see comments]. *N Engl J Med*. 1996;335:1350-6.
54. Arno A, Ruiz L, Juan M, Jou A, Balagué M, Zayat MK, et al. Efficacy of low-dose subcutaneous interleukin-2 to treat advanced human immunodeficiency virus type 1 in persons with ≤ 250 microL CD4 T cells and undetectable plasma virus load. *J Infect Dis*. 1999;180:56-60.
55. Connors M, Kovacs JA, Krevat S, Gea-Banacloche JC, Sneller MC, Flanigan M, et al. HIV infection induces changes in CD4+ T-cell phenotype and depletions within the CD4+ T-cell repertoire that are not immediately restored by antiviral or immune-based therapies. *Nat Med*. 1997;3:533-40.
56. Miró JM, Plana M, García F, Ortiz GM, Maleno MJ, Sued O, et al. Low-Dose Daily IL-2 combined with structured treatment interruptions (STI) did not increase the HIV-1-Specific T-cell responses in patients receiving HAART within 90 days after onset primary HIV-1 Infection (PHI) Symptoms. XV International AIDS Conference; Bangkok Thailand, 11-16 July, 2004.
57. Henry K, Tebas P, Cherng D, Schmitz J, Katzenstein D, Valdez H, et al. Interleukin-2 prior to stopping effective antiretroviral therapy prolongs time off treatment: initial results of a pilot study utilizing CD4+ T-cell count < 350 cells/mm³ as the threshold for restarting ART (ACTG A5102).

- Abstract 510. 11st Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; San Francisco, February, 8-11, 2004.
58. Levy Y, Gahery-Segard H, Durier C, Lascaux AS, Meiffredy V, Goujard C, et al. Immunological and Virological Efficacy of ALVAC-VIH 1433 and HIV Lipopeptides (Lipo-6T) Combined with SC IL-2 in Chronically HIV-infected Patients-Results of the ANRS 093 Randomized Study. Abstract 62. 10th conference on retroviruses and opportunistic infections, Boston, MA. February 2003. p. 10-14.
 59. Chun TW, Engel D, Mizell SB, Hallahan CW, Fischette M, Park S, et al. Effect of interleukin-2 on the pool of latently infected resting CD4+ cells in HIV-1-infected patients receiving highly active anti-retroviral therapy. *Nat Med.* 1999;5:651-5.
 60. Chun TW, Davey RTJ, Ostrowski MA, Justement SJ, Engel D, Mullins JI, et al. Relationship between pre-existing viral reservoirs and the re-emergence of plasma viremia after discontinuation of highly active anti-retroviral therapy. *Nat Med.* 2000;6:757-61.
 61. McFarland EJ, Harding PA, MaWhinney S, Schooley RT, Kuritzkes DR. *In vitro* effects of IL-12 on HIV-1-specific CTL lines from HIV-1-infected children. *J Immunol.* 1998;161:513-9.
 62. Forcina G, D'Ettoire G, Mastroianni CM, Carnevalini M, Scorzoloni L, Ceccarelli G, et al. Interleukin-15 modulates interferon-gamma and beta-chemokine production in patients with HIV infection: implications for immune-based therapy. *Cytokine.* 2004;25:283-90.
 63. Mastroianni CM, D'Ettoire G, Forcina G, Vullo V. Teaching tired T cells to fight HIV: time to test IL-15 for immunotherapy? *Trends Immunol.* 2004;25:121-5.
 64. Landay AL, Clerici M, Hashemi F, Kessler H, Berzofsky JA, Shearer GM. *In vitro* restoration of T cell immune function in human immunodeficiency virus-positive persons: effects of interleukin (IL)-12 and anti-IL-10. *J Infect Dis.* 1996;173:1085-91.
 65. Petrovas C, Mueller YM, Bojczuk P, et al. IL-15 treatment of SIV-infected non-human primates (Abstract 512). 11st Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; San Francisco, February, 2004. p. 8-11.
 66. Napolitano LA, Lo JC, Gotway MB, Mulligan K, Barbour JD, Schmidt D, et al. Increased thymic mass and circulating naive CD4 T cells in HIV-1-infected adults treated with growth hormone. *AIDS.* 2002;16:1103-11.
 67. Nguyen BY, Clerici M, Venzon DJ, Bauza S, Murphy WJ, Longo DL, et al. Pilot study of the immunologic effects of recombinant human growth hormone and recombinant insulin-like growth factor in HIV-infected patients. *AIDS.* 1998;12:895-904.
 68. Fagard C, Le Braz M, Gunthard H, Hirsch HH, Egger M, Vernazza P, et al. A controlled trial of granulocyte macrophage-colony stimulating factor during interruption of HAART. *AIDS.* 2003;17:1487-92.
 69. Lisziewicz J, Rosenberg E, Lieberman J, Jessen H, Lopalco L, Siliciano R, et al. Control of HIV despite the discontinuation of antiretroviral therapy [letter]. *N Engl J Med.* 1999;340:1683-4.
 70. Ortiz GM, Nixon DF, Trkola A, Binley J, Jin X, Bonhoeffer S, et al. HIV-1 specific immune response in subjects who temporarily contain virus replication after discontinuation of HAART. *J Clin Invest.* 1999;104:R13-R8.
 71. Ruiz L, Gómez I, Domingo P, Romeu J, Tambussi G, Martínez-Picado J, et al. A multi-center, randomized controlled clinical trial of continuous vs Intermittent HAART Guided by CD4+ T-cell counts and plasma HIV-1 RNA Levels. Abstract 65. 10th conference on retroviruses and opportunistic infections, Boston; MA. February 10-14, 2003.
 72. Martínez-Picado J, Morales-Lopezguy K, Wrinn T, Prado J, Frost SDW, Petropoulos CJ, et al. Selection of drug-resistant HIV-1 mutants in response to repeated structured treatment interruptions. *AIDS.* 2002;16:895-9.
 73. Ruiz L, Ribera E, Bonjoch A, Romeu J, Martínez-Picado J, Paredes R, et al. Role of structured treatment interruption before a 5-drug salvage antiretroviral regimen: the Retrogene Study. *J Infect Dis.* 2003;188:977-85.
 74. Rosenberg ES, Altfeld M, Poon S, Phillips M, Wilkes B, Eldridge R, et al. Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature.* 2000;407:523-6.
 75. Smith DE, Walker BD, Cooper DA, Rosenberg ES, Kaldor JM. Is antiretroviral treatment of primary HIV infection clinically justified on the basis of current evidence? *AIDS.* 2004;18:709-18.
 76. Fagard C, Oxenius A, Gunthard H, García F, Mestre G, Le Braz M, et al. A prospective trial of structured treatment interruptions in HIV infection. *Arch Intern Med.* 2003;163:1220-6.
 77. Oxenius A, Price D, Gunthard HF, Dawson S, Fagard C, Perrin L, et al. Stimulation of HIV specific cellular immunity by structured treatment interruption fails to enhance viral control in chronic HIV-infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:13752.
 78. García F, Plana M, Arnedo M, Ortiz GM, Miró JM, Lopalco L, et al. A Cytostatic Drug Improves Control of HIV-1 Replication During Structured Treatment Interruptions. A Randomized Study. *AIDS.* 2003;17:43-51.
 79. García F, Plana M, Ortiz GM, Bonhoeffer S, Soriano A, Vidal C, et al. The virological and immunological consequences of structured treatment interruptions in chronic HIV-1 infection. *AIDS.* 2001;15:F29-F40.
 80. Ortiz GM, Wellons M, Brancato J, Vo H, Zinn R, Clarkson D, et al. Structured antiretroviral treatment interruptions in chronically HIV-1-infected subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:13288-93.
 81. Carcelain G, Tubiana R, Samri A, Calvez V, Delaugerre C, Agut H, et al. Transient mobilization of human immunodeficiency virus (HIV)-specific CD4 T-helper cells fails to control virus rebounds during intermittent antiretroviral therapy in chronic HIV type 1 infection. *J Virol.* 2001;75:234-41.
 82. Ruiz L, Carcelain G, Martínez-Picado J, Frost SD, Marcia S, Paredes R, et al. HIV dynamics and T-cell immunity after three structured treatment interruptions in chronic HIV-1 infection. *AIDS.* 2001;15:F19-F27.
 83. Brechley JM, Hill BJ, Ambrozak DR, Price DA, Guenaga FJ, Casazza JP, et al. T-cell subsets that harbor human immunodeficiency virus (HIV) *in vivo*: implications for HIV pathogenesis. *J Virol.* 2004;78:1160-8.
 84. Younes SA, Yassine-Diab B, Dumont AR, Boulassel MR, Grossman Z, Routy JP, et al. HIV-1 viremia prevents the establishment of interleukin 2-producing HIV-specific memory CD4+ T cells endowed with proliferative capacity. *J Exp Med.* 2003;198:1909-22.
 85. Palmer BE, Boritz E, Wilson CC. Effects of sustained HIV-1 plasma viremia on HIV-1 gag-specific CD4+ T cell maturation and function. *J Immunol.* 2004;172:3337-47.
 86. Plana M, García F, Oxenius A, Ortiz GM, López A, Cruceta A, et al. Relevance of HIV-1-specific CD4+ T helper cell responses during structured treatment interruption in patients with a nadir CD4 T cells above 400/mm³. *J Acquir Immune Defic Syndr.* En prensa 2004.
 87. Salkowitz JR, Sieg SF, Harding CV, Lederman MM. *In vitro* human memory CD8 T cell expansion in response to cytomegalovirus requires CD4+ T cell help. *J Infect Dis.* 2004;189:971-83.
 88. Day CL, Walker BD. Progress in defining CD4 helper cell responses in chronic viral infections. *J Exp Med.* 2003;198:1773-7.
 89. Oxenius A, Price DA, Hersberger M, Schlaepfer E, Weber R, Weber M, et al. HIV-Specific Cellular Immune Response Is Inversely Correlated with Disease Progression as Defined by Decline of CD4+ T Cells in Relation to HIV RNA Load. *J Infect Dis.* 2004;189:1199-208.
 90. D'Offizi G, Montesano C, Agrati C, Gioia C, Amicosante M, Topino S, et al. Expansion of pre-terminally differentiated CD8 T cells in chronic HIV-positive patients presenting a rapid viral rebound during structured treatment interruption. *AIDS.* 2002;16:2431-38.
 91. Frost SDW, Martínez-Picado J, Ruiz L, Clotet B, Brown AJ. Viral dynamics during structured treatment interruptions of chronic human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol.* 2002;76:968-79.
 92. Martínez-Picado J, Frost SD, Izquierdo N, Morales-Lopezguy K, Marfil S, Puig T, et al. Viral evolution during structured treatment interruptions in chronically human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Virol.* 2002;76:12344-8.
 93. Dybul M, Daucher M, Jensen MA, Hallahan CW, Chun TW, Belson M, et al. Genetic characterization of rebounding human immunodeficiency virus type 1 in plasma during multiple interruptions of highly active antiretroviral therapy. *J Virol.* 2003;77:3229-37.
 94. García F, Plana M, Mestre G, Arnedo M, Gil C, Miró JM, et al. Immunologic and virologic factors at baseline may predict response to structured therapy interruption in early stage chronic HIV-1 infection. *AIDS.* 2002;16:1761-5.
 95. Altfeld M, Lunzen J, Frahm N, Yu XG, Schneider C, Eldridge R, et al. Expansion of pre-existing, lymph node-localized CD8+ T cells during supervised treatment interruptions in chronic HIV-1 infection. *J Clin Invest.* 2002;109:837-43.
 96. Giorgi JV, Hultin LE, McKeating JA, Johnson TD, Owens B, Jacobson LP, et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. *J Infect Dis.* 1999;179:859-70.
 97. Chun TW, Justement JS, Sanford C, Hallahan CW, Plana MA, Loutfy M, et al. Relationship between the frequency of HIV-specific CD8+ T cells and the level of CD38+ CD8+ T cells in untreated HIV-infected individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:2464-9.
 98. Lori F, Lewis M, Xu J, Varga G, Zinn D, Crabbs C, et al. Control of SIV rebound through structured treatment interruptions during early infection. *Science.* 2000;290:1591-3.
 99. Hellinger J, Iwane M, Smith J, Fleishman A, Torres R, Schrader S, et al. A randomized study of the safety and antiretroviral activity of hydroxyurea combined with didanosine in persons infected with human immunodeficiency virus type 1. American Foundation for AIDS Research Community-Based Clinical Trials Network. *J Infect Dis.* 2000;181:540-7.
 100. Piccinini G, Foli A, Comolli G, Lisziewicz J, Lori F. Complementary antiviral efficacy of hydroxyurea and protease inhibitors in human immunodeficiency virus-infected dendritic cells and lymphocytes. *J Virol.* 2002;76:2274-8.
 101. Chapuis A, Rizzardi P, D'Agostini C, Attinger A, Knabenhans C, Fleury S, et al. Effects of mycophenolic acid on human immunodeficiency virus infection *in vitro* and *in vivo*. *Nat Med.* 2000;6:762-8.

102. García F, Plana M, Arnedo M, Brunet M, Castro P, Gil C, et al. Effect of mycophenolate mofetil on immune response and on plasma and lymphatic tissue viral load during and after interruption of HAART in chronic HIV-1 infected patients. A pilot randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. En prensa 2004.
103. Margolis D, Kewn S, Coull JJ, Ylisastigui L, Turner D, Wise H, et al. The addition of mycophenolate mofetil to antiretroviral therapy including abacavir is associated with depletion of intracellular deoxyguanosine triphosphate and a decrease in plasma HIV-1 RNA. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;31:45-9.
104. Rizzardi GP, Harari A, Capiluppi B, Tambussi G, Ellefsen K, Ciuffreda D, et al. Treatment of primary HIV-1 infection with cyclosporin A coupled with highly active antiretroviral therapy. *J Clin Invest*. 2002;109:681-8.
105. Markowitz M, Jin X, Hurlay A, Simon V, Ramratnam B, Louie M, et al. Discontinuation of antiretroviral therapy commenced early during the course of human immunodeficiency virus type 1 infection, with or without adjunctive vaccination. *J Infect Dis*. 2002;186:634-43.
106. MacGregor RR, Ginsberg R, Ugen KE, Baine Y, Kang CU, Tu XM, et al. T-cell responses induced in normal volunteers immunized with a DNA-based vaccine containing HIV-1 env and rev. *AIDS*. 2002;16:2137-43.
107. MacGregor RR, Boyer JD, Ciccarelli RB, Ginsberg RS, Weiner DB. Safety and immune responses to a DNA-based human immunodeficiency virus (HIV) type I env/rev vaccine in HIV-infected recipients: follow-up data. *J Infect Dis*. 2000;181:406.
108. Schooley RT, Spino C, Kuritzkes D, Walker BD, Valentine FA, Hirsch MS, et al. Two double-blinded, randomized, comparative trials of 4 human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) envelope vaccines in HIV-1-infected individuals across a spectrum of disease severity: AIDS Clinical Trials Groups 209 and 214. *J Infect Dis*. 2000;182:1357-64.
109. Smith D, Gow I, Colebunders R, Weller I, Tchamouroff S, Weber J, et al. Therapeutic vaccination (p24-VLP) of patients with advanced HIV-1 infection in the pre-HAART era does not alter CD4 cell decline. *HIV Med*. 2001;2:272-5.
110. Robbins GK, Addo MM, Truong H, Rathod A, Habeeb K, Davis B, et al. Augmentation of HIV-1-specific T helper cell responses in chronic HIV-1 infection by therapeutic immunization. *AIDS*. 2003;17:1121-6.
111. Lederman MM, Douek DC. Sometimes help may not be enough. *AIDS*. 2003;17:1249-51.
112. Kahn JO, Cherng DW, Mayer K, Murray H, Lagakos S. Evaluation of HIV-1 immunogen, an immunologic modifier, administered to patients infected with HIV having 300 to 549 10⁶/L CD4 cell counts: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2000;284:2193-202.
113. Lu W, Wu X, Lu Y, Guo W, Andrieu JM. Therapeutic dendritic-cell vaccine for simian AIDS. *Nat Med*. 2003;9:27-32.
114. Lapenta C, Santini S, Logozzi M, Spada M, Andreotti M, Pucchio T, et al. Potent Immune responses against HIV-1 and protection from virus challenge in hu-PBL-SCID mice immunized with inactivated virus-pulsed dendritic cells generated in the presence of IFN- α . *J Exp Med*. 2003;198:361-7.
115. Yoshida A, Tanaka R, Murakami T, Takahashi Y, Koyanagi Y, Nakamura M, et al. Induction of protective immune responses against R5 Human Immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection in hu-PBL-SCID mice by intra-splenic immunization with HIV-1 pulsed dendritic cells: possible involvement of a novel factor of human CD4⁺ T-cell origin. *J Virol*. 2003;77:8719-28.
116. García F, Lejeune M, Climent N, Gil C, Alcami J, Morente V, et al. Final results of a phase I study of a therapeutic vaccine using monocyte-derived autologous dendritic cells primed with autologous virus in patients with chronic HIV infection and nadir of CD4 T cells above 400 mm³. 11st Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco; February, 2004. p. 8-11.
117. Shedlock DJ, Shen H. Requirement for CD4 T cell help in generating functional CD8 T cell memory. *Science*. 2003;300:337-9.
118. Sun JC, Bevan MJ. Defective CD8 T cell memory following acute infection without CD4 T cell help. *Science*. 2003;300:339-42.
119. Steinman RM, Pope M. Exploiting dendritic cells to improve vaccine efficacy. *J Clin Invest*. 2002;109:1519-26.
120. Kinloch-de-Loes S, Perrin L, Hoen B, Lampe F, Phillips A, Goh L, et al. Evaluation of 2 therapeutic HIV vaccination regimens in HAART-treated primary HIV infection subjects following analytical treatment interruption: QUEST PROB3005, a randomized, placebo-controlled study. Abstract 168. 11st Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; San Francisco, February, 8-11 2004.
121. Cooper D, Workman C, Puls R, Bloch M, Baker D, Bodsworth NJ, et al. Randomized, placebo-controlled, phase 1/2a evaluation of the safety, biological activity and antiretroviral properties of an avipox virus vaccine expressing HIV gag-pol and interferon-gamma in HIV-1 infected subjects. Abstract 169. 11st Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; San Francisco, February, 8-11 2004.
122. McConkey SJ, Reece WH, Moorthy VS, Webster D, Dunachie S, Butcher G, et al. Enhanced T-cell immunogenicity of plasmid DNA vaccines boosted by recombinant modified vaccinia virus Ankara in humans. *Nat Med*. 2003;9:729-35.
123. Lisziewicz J, Bakare N, Lori F. Therapeutic vaccination for future management of HIV/AIDS. *Vaccine*. 2003;21:620-3.
124. Mitsuyasu RT, Anton P, Deeks SG, Scadden DT, Connick ED, Owns M, et al. Prolonged survival and tissue trafficking following adoptive transfer of CD4 zeta gene modified autologous CD4 and CD8 T cells in human immunodeficiency virus-infected subjects. *Blood*. 2000;96:785-93.
125. Jacobson E, Smith KA, Smith KA. Rational interleukin 2 therapy for HIV-positive individuals: daily low doses enhance immune function without toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:10405-10.
126. Aladdin H, Ullum H, Dam Nielsen S, Espersen C, Mathiesen L, Katzstein TL, et al. Granulocyte colony-stimulating factor increases CD4 T cell counts of human immunodeficiency virus-infected patients receiving stable, highly active antiretroviral therapy: results from a randomized, placebo-controlled trial. *J Infect Dis*. 2000;181:1148-52.
127. Brites C, Gilbert MJ, Pedral-Sampaio D, Bahia F, Pedrosa C, Alcantara A, et al. A randomized, placebo-controlled trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and nucleoside analogue therapy in AIDS. *J Infect Dis*. 2000;182:1531-5.
128. Alston B, Ellenberg JH, Standiford H, Muth K, Martínez A, Greaves W, et al. A multicenter, randomized, controlled trial of three preparations of low-dose oral alpha-interferon in HIV-infected patients with CD4 counts between 50 and 350 cells/mm³. Division of AIDS Treatment Research Initiative (DATRI). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1999;22:348-57.
129. Angel J, Jacobson MA, Skolnik PR, Giordano M, Shapiro L, LeBeaut A, et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of recombinant human IL-10 in HIV-infected subjects. *AIDS*. 2000;14:2503-8.
130. Jacobson MA, Hardy D, Connick E, Watson JS, Debruin M. Phase I trial of a single dose of recombinant human interleukin-12 in human immunodeficiency virus-infected patients with 100-500 CD4 cells/mL. *J Infect Dis*. 2000;182:1070-6.
131. Kanai T, Thomas E, Yasutomi Y, Letvin NL. IL-15 stimulates the expansion of AIDS virus-specific CTL. *J Immunol*. 1996;157:3681-7.
132. Truong M, Darciassac E, Hermann E, Dewulf J, Capron A, Bahr J. Interleukin-16 inhibits human immunodeficiency virus type 1 entry and replication in macrophages and in dendritic cells. *J Virol*. 1999;73:7008-13.
133. Napolitano L, Grant RM, Deeks S, Schmidt D, De Rosa S, Herzenberg LA, et al. Increased production of IL-7 accompanies HIV-1-mediated T-cell depletion: implications for T-cell homeostasis. *Nat Med*. 2001;7:73-9.
134. Andrieu JM, Lu W, Levy R. Sustained increases in CD4 cell counts in asymptomatic human immunodeficiency virus type 1-seropositive patients treated with prednisolone for 1 year. *J Infect Dis*. 1995;171:523-30.
135. Rizzardi GP, Vaccarezza M, Capiluppi B, Tambussi G, Lazzarin A, Pantaleo G. Cyclosporin A in combination with HAART in primary HIV-1 infection. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2000;14:79-81.
136. Jacobson JM, Greenspan JS, Spritzler J, Ketter N, Fahey JL, Jackson JB, et al. Thalidomide for the treatment of oral aphthous ulcers in patients with human immunodeficiency virus infection. National Institute of Allergy and Infectious Diseases AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med*. 1997;336:1487-93.
137. Patterson BK, Carlo D, Kaplan MH, Marecki M, Pawha S, Moss R. Cell-associated HIV-1 messenger RNA and DNA in T-helper cell and monocytes in asymptomatic HIV-1-infected subjects on HAART plus an inactivated HIV-1 immunogen. *AIDS*. 1999;13:1607-11.
138. Amara R, Villinger F, Altman J, Lydy S, O'Neil S, Staprans SI, et al. Control of a Mucosal Challenge and Prevention of AIDS by a Multiprotein DNA/MVA Vaccine. *Science*. 2001;292:69-74.
139. Buge S, Murty L, Arora K, Kalyanaraman VS, Markham PD, Richardson E, et al. Factors associated with slow disease progression in macaques immunized with an adenovirus simian immunodeficiency virus (SIV) envelope priming-gp120 boosting regimen and challenged vaginally with SIVmac 251. *J Virol*. 1999;73:7430-40.