

Patologia específica de la salut reproductiva de la dona infectada pel virus de la immunodeficiència humana adquirida: de la concepció al part

Anna Suy Franch

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Tesi Doctoral

**PATOLOGIA ESPECÍFICA DE LA SALUT REPRODUCTIVA DE LA DONA
INFECTADA PEL VIRUS DE LA IMMUNODEFICIÈNCIA HUMANA
ADQUIRIDA: DE LA CONCEPCIÓ AL PART**

Anna Suy Franch

**Departament de Medicina
Facultat de Medicina
Universitat de Barcelona
Barcelona, 2009**

El **Dr. Josep Oriol Coll Escursell**, professor associat del Departament de Medicina de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona i Cap de Secció de Medicina Maternofetal del Hospital Clínic de Barcelona

CERTIFICA:

Que la tesi titulada: **“PATOLOGIA ESPECÍFICA DE LA SALUT REPRODUCTIVA DE LA DONA INFECTADA PEL VIRUS DE LA IMMUNODEFICIÈNCIA HUMANA ADQUIRIDA: DE LA CONCEPCIÓ AL PART”** i dirigida pels sotasignats és apta per ser defensada davant el Tribunal corresponent, per optar al grau de Doctor.

Dr. Josep Oriol Coll Escursell
Barcelona, 29 de setembre del 2009

Directors de la tesi:

Dr. Josep Oriol Coll Escursell
Departament de Ginecologia i Obstetrícia
Hospital Clínic de Barcelona

Dr. Esteban Martínez Chamorro
Departament de Malalties Infeccioses
Hospital Clínic de Barcelona

Als meus pares

La present Tesi Doctoral s'ha estructurat seguint la Normativa Interna de la Universitat de Barcelona per a la presentació de tesis doctorals com a compendi de publicacions, aprovada per la Comissió de Doctorat de la Facultat de Medicina del dia 19 d'abril del 2006.

Els treballs que formen part de la memòria del projecte de tesi doctoral pertanyen a la mateixa línia de recerca, emmarcada en l'estudi de la patologia específica de la dona infectada pel virus de la immunodeficiència humana en el seu procés reproductiu, incloent des de la concepció fins al moment del part. Els resultats d'aquests treballs han aportat informació rellevant i innovadora en aquest camp i han estat recollits en 7 articles originals publicats en revistes d'àmplia difusió internacional.

**“De vegades sentim que el que fem és només una gota al mar,
però el mar seria menys si li faltés una gota.”**

Mare Teresa de Calcuta

Vull agrair a totes les persones que han fet possible la realització d'aquesta Tesi Doctoral, especialment a totes aquelles dones que han participat en aquest projecte per dipositar la seva confiança en nosaltres.

A tots els companys i companyes de l'Hospital Clínic i de la Clínica Eugin, que han col·laborat amb les seves valuoses aportacions i una paciència incondicional. Vull fer un esment molt especial per la Susana i la Montse de Maternitat, les infermeres de la planta de Ginecologia i, també, la M^a José i l'Anna del Laboratori d'Immunologia.

Els treballs que formen part d'aquesta memòria no haguessin estat possibles sense la participació de cadascun dels signants. Vull destacar la Dra. Montse Loncà que ha estat per mi una excel·lent col·laboradora i companya en aquest llarg camí recorregut. I, també, la Dra. Montse Plana, sense la qual, la immunologia m'hagués resultat una muntanya infranquejable.

El meu més sincer agraïment als directors de la tesi. Ha estat un honor per mi, que em dirigís el Dr. Esteban Martínez. Qui m'havia de dir, quan m'ensenyava a fer les primeres històries clíniques, en la meva etapa d'estudiant, que seria precisament ell qui dirigiria la meva tesi?. Per descomptat, vull fer un esment molt especial del Dr. Oriol Coll, que des del primer dia va saber despertar en mi la inquietud i el respecte per les persones que conviuen amb una malaltia tan particular com és la infecció VIH. Amb ell he compartit algunes de les vivències més significatives de la meva vida professional. El Dr. Coll ha estat, per mi, més que un bon "cap" un bon amic. A tots dos, moltes gràcies per haver-me ajudat a què aquesta tesi arribi a bon port contribuint amb el vostre esforç, paciència, exigència i esperit crític: moltes gràcies!!

Aquesta tesi no només és el recull de l'esforç dels professionals. Ha estat en Miquel, qui ha recolzat sempre les meves decisions, m'ha animat en els moments d'incertesa i ha celebrant amb mi les fites assolides.

I, finalment, gràcies a la Berta i en Jan... els meus millors "treballs no publicats".

ÍNDEX



Abreviatures	1
Introducció	
1. LA SÍNDROME DE LA IMMUNODEFICIÈNCIA ADQUIRIDA (SIDA)	7
1.1. Agent causal de la SIDA	7
1.2. Cicle de replicació del virus	8
1.3. Patogènia del VIH	9
1.4. Resposta immunitària a la infecció VIH	10
1.5. Mecanismes de transmissió del VIH	11
1.6. Diagnòstic del VIH	12
1.7. Càrrega viral i recompte de limfòcits T CD4+	12
1.8. Tractament antiretroviral	13
2. EPIDEMIOLOGIA	17
3. MANEIG DE LA DONA INFECTADA PEL VIH	21
3.1. Influència del sexe en la resposta al TARGA	21
3.2. Influència del sexe en el moment d'inici del TARGA	22
3.3. Diferències farmacocinètiques relacionades amb el sexe	22
3.4. Diferències en els efectes adversos en dones no embarassades	23
3.5. Complicacions metabòliques associades al tractament antiretroviral en dones	24
4. EL VIH EN OBSTETRÍCIA	25
4.1. La fertilitat en la dona infectada pel VIH	25
4.2. Reproducció assistida en parelles afectes de la infecció VIH	27
4.3. Transmissió Vertical del VIH	30
4.4. El tractament antiretroviral durant l' embaràs	32
4.5. Toxicitat del tractament antiretroviral en la dona embarassada	36
4.6. Alteracions farmacocinètiques dels antiretrovirals durant l'embaràs	38

Índex

5. COMPLICACIONS OBSTÈTRIQUES	41
5.1. La preeclampsia	43
6. PROCEDIMENTS INVASIUS	49
7. VIA DE PART	53
Hipòtesi	57
Objectius	61
Publicacions	67
1. Immunological Profile of Heterosexual Highly HIV Exposed Uninfected Individuals: Predominant Role of CD4 and CD8 T-Cell Activation	69
2. Fertility assessment in non-infertile HIV infected women and their partners	83
3. Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART	93
4. Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral treated infertile women	99
5. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy	107
6. Prenatal diagnosis in human immunodeficiency virus-infected women: A new screening program for chromosomal anomalies	117
7. Current guidelines on management of HIV-infected pregnant women: Impact on mode of delivery	127
Discussió	135
Aplicació pràctica	157
Conclusions	163
Bibliografia	169

ABREVIATURES

A red L-shaped graphic element consisting of two parallel lines. The inner line is shorter than the outer line, creating a rectangular frame. The text 'ABREVIATURES' is centered within this frame.

VIH	virus de la immunodeficiència humana
SIDA	síndrome de la immunodeficiència adquirida
TV	transmissió vertical
TARGA	tractament antiretroviral de gran activitat
IP	Inhibidor de la proteasa
ENI	exposats no infectats
ALEH	acidosis làctica i esteatosi hepàtica
ZDV	zidovudina
d4T	estavudina
ddI	didanosina
NVP	nevirapina
TDF	tedofovir
IDV	indinavir
ATV	atazanavir
EFV	efavirenz
RTV	ritonavir
LPV/r	lopinavir/ ritonavir
ABC	abacavir
ECS	European Collaborative Study
ATCC	Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration
SPNS	Secretaria del Plan Nacional del Sida
CEESCAT	Centre d'Estudis Epidemiològics sobre la Sida de Catalunya
TIPHG	The International Perinatal HIV Group
TPSRWG	The Perinatal Safety Review Working Group
TEMDC	The European Mode of Delivery Collaboration
EHOg	European HIV in Obstetrics Group

INTRODUCCIÓ



1. LA SÍNDROME DE LA IMMUNODEFICIÈNCIA ADQUIRIDA (SIDA)

La síndrome de la immunodeficiència humana adquirida (SIDA) es va descriure per primera vegada entre addictes a drogues per via parenteral a Nova York i homosexuals a San Francisco l'any 1981. Dos anys després es va identificar un nou retrovirus que es va anomenar virus de la immunodeficiència humana (VIH) i es va descobrir la implicació d'aquest virus en la SIDA.

1.1. Agent causal de la SIDA

El virus de la immunodeficiència humana (VIH) és una partícula esfèrica de 80-100 nm, amb una estructura en tres capes: la interna o nucleoide que conté ARN, la nucleoproteïna i els enzims vírics. Una càpside icosaèdrica i un embolcall derivat de la cèl·lula hoste on s'insereixen les glicoproteïnes i els antígens d'histocompatibilitat de classe I i II que deriven de la cèl·lula hoste (Figura 1).

El genoma del virus és una cadena única d'ARN. L'ARN es replica mitjançant un enzim contingut en el virió, la transcriptasa inversa, que catalitza la formació del provirus en forma de doble cadena d'ADN, que s'integra en el genoma de la cèl·lula hoste.

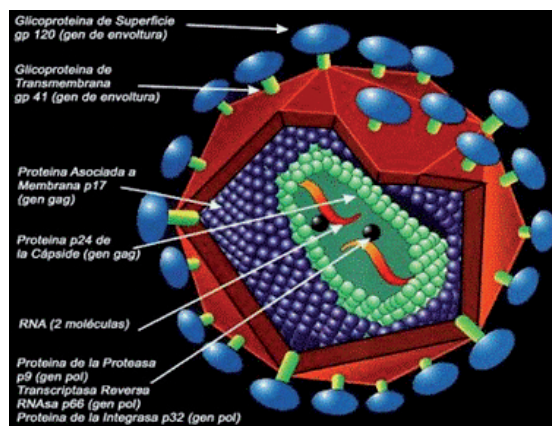


Figura1: Arquitectura de la partícula del VIH i proteïnes codificades pel virus. <http://www.ciudad.jovenclub.cu/VIH-SIDA/imagenes/vih.jpg>

El VIH té una gran riquesa de gens i proteïnes reguladores que condicionen la interacció virus-cèl·lula i per tant la patogènia de la malaltia. A més dels gens gag, pol i env, presents en tots els retrovirus, el VIH posseeix gens addicionals, reguladors i accessoris que el fan diferent d'altres retrovirus (Figura 2).

El gen env codifica per proteïnes de l'embolcall (proteïna extracel·lular gp120 i proteïna transmembrana gp41). El gen gag codifica la proteïna anomenada matriu que es troba sota la membrana lipídica i també les proteïnes estructurals de la càpside. El gen pol codifica les proteïnes virals amb activitat enzimàtica (proteasa, integrasa i transcriptasa inversa).

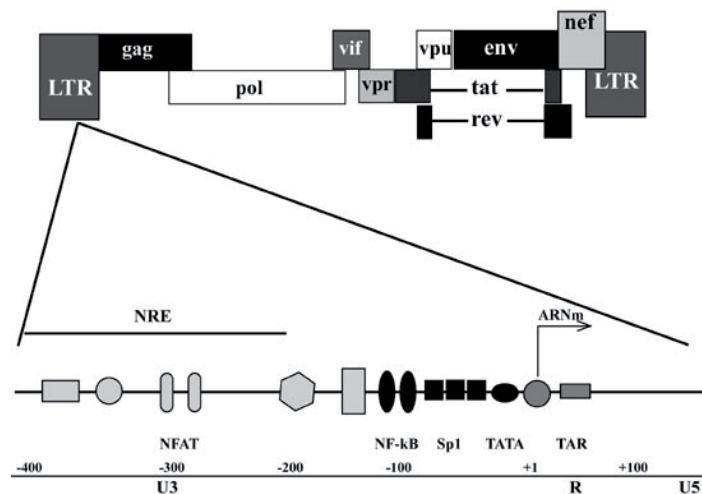


Figura 2: Genoma del VIH. Alguns gens utilitzen les mateixes seqüències que d'altres, per això apareix la superposició dels blocs, però l'ARN polimerasa de la cèl·lula hoste els llegeix de manera diferenciada. (<http://www.ciudad.jovenclub.cu/VIH-SIDA/Imagenes/vih.jpg>)

1.2. Cicle de replicació del virus

El cicle de replicació del virus es subdivideix en etapes. Després d'una primera etapa d'absorció, fusió i internalització del virió que es dona a la membrana cel·lular, el virus es retrotranscriu al citoplasma i posteriorment el complex de retrotranscripció és transportat fins

al nucli on l'ADN s'integra als cromosomes. El cicle segueix amb la transcripció i la traducció de les proteïnes virals i acaba amb la morfogènesi i sortida de nous virions (Figura 3).

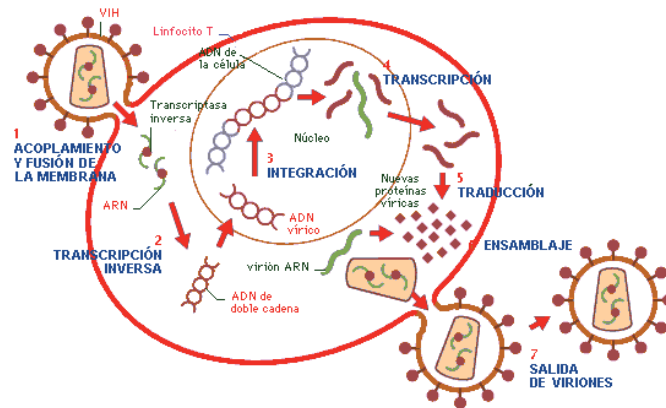


FIGURA 3: Cicle de replicació del virus VIH
(www.ctv.es/USERS/fpardo/imagen/vihciclo.gif)

1.3. Patogènia del VIH

En la infecció VIH es distingeixen tres períodes:

La primoinfecció, fase en que el virus es dissemina intensament pels òrgans limfoides. Es caracteritza per nivells de virèmia molt alts. Dura entre 2 i 6 setmanes i s'acompanya sovint de símptomes inespecífics, similars als d'altres infeccions virals agudes. El seu pas a infecció crònica coincideix amb l'aparició d'anticossos contra el VIH.

La fase d'infecció crònica, que dura de mitjana 10 anys i es caracteritza per uns nivells de CD4 relativament estables però amb tendència a la baixa. En aquesta fase la virèmia disminueix molt respecte a la primoinfecció. El virus, però, continua la seva replicació en el teixit limfoide, tot i la presència d'anticossos i de limfòcits T citotòxics contra el virus. En

aquesta fase decau el nombre de CD4 i el nivell de virèmia assolit esdevé un factor predictiu dels anys que durarà aquesta fase.

Infecció avançada o SIDA, fase en que el recompte de limfòcits T CD4 és inferior a 200 cel/ml, la replicació viral s'accelera, l'activitat dels limfòcits T citotòxics contra el VIH disminueix, es destrueix l'arquitectura limfàtica i apareixen infeccions oportunistes.

A causa dels errors comesos per la transcriptasa inversa, els virus ARN generen, en replicar, una sèrie de variants, algunes d'elles inviables, però entre les que sobreviuen s'acaba generant una gran heterogeneïtat. Aquestes variants genètiques s'anomenen *quasiespecies*.

La vida mitjana d'una cèl·lula infectada és d'uns dos dies i la d'un virió en el plasma d'unes 6 hores. Això implica que la quasi totalitat de la població viral del plasma es renova cada dia, de l'ordre de 10^9 a 10^{10} nous virions per dia (Ho DD, 1995; Wei X, 1995).

Un dels problemes principals de la variabilitat del virus és l'aparició espontània de resistències, tot i no existir la pressió selectiva d'un fàrmac (Nájera I, 1994).

1.4. Resposta immunitària a la infecció VIH

Es produeixen dos tipus de resposta immune:

La resposta humoral, quan la infecció VIH indueix una intensa resposta d'anticossos enfront de pràcticament totes les proteïnes reguladores i estructurals del virus. A més també existeixen mecanismes immunitaris inespecífics amb activitat contra el virus, com el complement o els interferons, que representen una barrera contra la infecció pel VIH, però que resulten insuficients per permetre un control complert de la replicació viral.

La resposta cel·lular, quan en la infecció pel VIH es produeix una resposta cel·lular antiviral en les diferents poblacions: limfòcits T col·laboradors, limfòcits T citotòxics i cèl·lules NK. En pacients seropositius existeix una expansió clonal de limfòcits CD8 amb activitat citotòxica.

Aquesta resposta és particularment intensa en pacients en primoinfecció, o en alguns pacients en tractament antiretroviral i la seva intensitat es relaciona amb el control de la replicació viral.

En la fase finestra de la primoinfecció és possible detectar activitat citotòxica davant del VIH, el que suggereix que la resposta cel·lular en la infecció VIH es produeix abans que la resposta humoral. El control de la replicació del virus és el resultat de l'equilibri entre la virulència de soques infectants i la capacitat de la resposta generada per l'hoste. L'equilibri entre ambdues es reflecteix en la càrrega viral de l'individu una vegada superada la fase primària.

En la fase crònica de la malaltia es produeix una resposta immune intensa tant cel·lular com humoral. Els mecanismes d'immunosupressió i destrucció dels CD4 es produeixen de forma persistent i a mig termini comporten una incapacitat del sistema immunitari de controlar la malaltia. Alhora, el virus cada cop produeix variants més agressives que acaben desplaçant l'equilibri virus-hoste en favor del virus (Alcamí J, 2007).

El final de la malaltia es caracteritza per la caiguda del nombre de limfòcits CD4 i l'elevació de la càrrega viral. En aquesta etapa s'observa un deteriorament de la resposta humoral i cel·lular enfront del VIH. Aquesta situació es deu probablement a un augment de la cinètica de replicació viral que respon a la generació de mutants d'escapament, que el sistema és incapaç de frenar.

1.5. Mecanismes de transmissió del VIH

El VIH es pot transmetre per tres vies:

Transmissió parenteral, a través de la drogoaddicció per via parenteral (0,0067 per episodi d'injecció) (Kaplan EH, 1992), també per transfusió de sang o hemoderivats (60-95% en

transfusions de múltiples donants) (Donegan E, 1994) o a través del trasplantament d'òrgans o teixits (85% en cas d'òrgan trasplantat infectat) (Simonds RJ, 1993).

Transmissió sexual, a través de relacions homo o heterosexuales. La transmissió heterosexual és més fàcil quan l'infectat és l'home (0,05-0,15%) que quan l'infectat és la dona (0.03-0.09%), atès que el volum de semen és més gran que el de les secrecions cervicovaginals i també perquè la concentració del virus en el líquid seminal és més gran. (Royce RA, 1997).

Transmissió vertical, transmissió mare-fill, que es produeix en un 14-25% dels casos en què no es realitza cap intervenció terapèutica. Pot produir-se durant l'embaràs (25-40%), el part (60-75%) i també en el postpart durant l'alletament matern (14-29%) (Newel ML, 1998; Dunn DT, 1992).

1.6. Diagnòstic del VIH

El diagnòstic de la infecció VIH és serològic, atès que la clínica, tot i que pot resultar suggeridora, és inespecífica.

La seropositivitat es defineix mitjançant la demostració de la presència d'anticossos contra les proteïnes virals, de forma repetida en les proves de cribratge (enzimoinmunoanàlisi, proves d'aglutinació,...) i, a més, amb una prova de confirmació (Western blot, anàlisis per radioimmunoprecipitació, immunofluorescència indirecta,...) (Soriano V, 1994) .

Les proves de detecció ràpida (proves d'aglutinació i d'immunoaderència), que detecten la presència d'anticossos en menys d'una hora, poden permetre la detecció del VIH en situacions d'urgència, com per exemple en els casos de trasplantaments o també en les sales de parts (Merhi Z, 2005; Doyle NM, 2005).

1.7. Càrrega viral i recompte de limfòcits T CD4+

Conèixer l'estat immunològic del pacient i l'activitat viral del VIH ens permetrà conèixer el risc que té un pacient de desenvolupar SIDA, el moment d'iniciar tractament antiretroviral i el moment d'instaurar profilaxi primària per determinades infeccions oportunistes com ara *Citomegalovirus*, *Pneumocistis Jirovecii*, *Toxoplasma gondii* i *Micobacterium Avium Intracelulare*.

La càrrega viral en plasma és el nombre de còpies d'ARN del VIH-1 per ml de plasma. Els mètodes més sensibles permeten la detecció d'entre 20 i 50 còpies/ml.

La determinació del nombre de limfòcits T CD4 pot alterar-se per diverses situacions. El nombre de leucòcits i limfòcits és variable a diferents hores del dia i de dia a dia, i la determinació del percentatge de limfòcits CD4 varia segons el laboratori. L'exercici físic, el tabac, els corticoides, l'esplenectomia, les malalties agudes de tipus infecció, i també l'embaràs poden variar el recompte de limfòcits T CD4 ([Blanco JL, 2007](#)).

1.8. Tractament antiretroviral

El principi fonamental del tractament antiretroviral és suprimir al màxim i de manera sostinguda la replicació del VIH amb la finalitat de permetre que el sistema immunitari no continuï deteriorant-se de forma espontània i es recuperi. Gràcies al tractament antiretroviral s'ha reduït dràsticament el risc de progressió i mort dels pacients infectats pel VIH. Tot i així, l'esperança de vida dels pacients és més curta que la de la població general ([ATCC, 2008](#)). Sembla que tan sols aquells pacients que han realitzat almenys 6 anys de tractament antiretroviral i han assolit uns nivells de CD4>500 cel/ml tindrien una mortalitat semblant a la població general ([Lewden C, 2007](#)).

La decisió d'iniciar el tractament antiretroviral es basa en tres elements: la presència de simptomatologia relacionada amb la infecció VIH, la càrrega viral en plasma i, principalment, el recompte de limfòcits T CD4.

La zidovudina, anàleg nucleòsid de la timidina que inhibeix la transcriptasa inversa (Fischl MA, 1987) va ser el primer medicament amb activitat antiretroviral sotmès a un assaig clínic. La comercialització a partir del 1996 dels inhibidors de la proteasa, que va coincidir amb un canvi en la estratègia de tractament (utilització de combinacions de tres o més fàrmacs), i la possibilitat de monitoratge de l'efecte del tractament amb la mesura de la càrrega viral plasmàtica, va representar una revolució en el tractament dels individus infectats pel VIH i va suposar una reducció molt important de les complicacions clíniques (infeccions oportunistes i neoplàsies associades) i un augment espectacular de la supervivència (Palella FJ, 1998).

La incorporació en la farmacopea de noves famílies de fàrmacs com els inhibidors de la unió, inhibidors del correceptor CCR5 o els inhibidors de la integrasa, ha permès elaborar noves pautes de rescat esperançadores per als pacients amb una infecció multiresistent. (Gesida, 2009)

El tractament antiretroviral actual comporta inevitablement un risc de toxicitat. Tot i que alguns efectes secundaris són més esperats a l'inici del tractament amb un fàrmac determinat, el risc en general augmenta amb el temps i se sol associar a processos fisiològics o comorbiditats relacionades amb l'envelliment.

Els efectes adversos amb més importància clínica són:

-toxicitat mitocondrial, produïda per la inhibició de l'enzim ADN-polimerasa mitocondrial pels nucleòsids. L'efecte més característic és el produït per la combinació d'acidosis làctica i d'esteatosi hepàtica (ALEH), induït per estavudina (d4T), zidovudina (ZDV) o didanosina (ddl). La seva incidència és baixa però pot arribar a ser mortal si no es diagnostica a temps. Les manifestacions clíniques -astènia, dispnea, insuficiència hepàtica o acidosis làctica- apareixen quan el lactat és >5-10 nmol/L. Si es detecta en la fase asimptomàtica, el

pronòstic és molt millor. El tractament es basa en la supressió dels fàrmacs nucleòsids (Falcó V, 2002).

-reaccions de hipersensibilitat: causades principalment per abacavir (ABC) i fàrmacs no nucleòsids. Aquests darrers solen presentar-se com un exantema cutani i més ocasionalment com una reacció sistèmica o necròlisi epidèrmica tòxica.

-hepatotoxicitat: és l'efecte advers més específic del grup dels no nucleòsids. Sol ser un quadre lleu o moderat i en pocs casos cursa com una hepatitis simptomàtica. La nevirapina (NVP) és el fàrmac causant amb més freqüència i es desaconsella el seu ús en dones amb CD4>250 cel/ml i homes amb CD4>400 cel/ml.

-nefrototoxicitat: tedofovir (TDF) pot produir una disfunció tubular que es manifesta com una síndrome de Fanconi i una disminució del filtrat glomerular (Gupta SK, 2008). Reverteix en retirar el fàrmac. Indinavir (IDV) i amb menys freqüència atazanavir (ATV) poden produir nefrolitiasi per dipòsit de cristalls.

-trastorns neuropsiquiàtrics: efavirenz (EFV) produeix en més del 50% dels casos mareig, somnolència, insomni, somnis, confusió, ansietat, entre d'altres, que solen millorar o desaparèixer a les 2-4 setmanes de tractament (Blanch J, 2001).

-dislipèmia: caracteritzada per un augment del colesterol total, colesterol LDL i principalment els triglicèrids. És un efecte advers molt freqüent. El produeixen alguns IPs i també alguns anàlegs de la timidina (Moyle G, 2007). L'objectiu de l'avaluació i el tractament de la dislipèmia serà la prevenció de la malaltia arterioscleròtica.

-diabetis mellitus: els IPs mitjançant la inhibició de l'enzim GLUT4 poden disminuir la disponibilitat de la glucosa perifèrica i la secreció pancreàtica d'insulina. Indinavir (IDV), ritonavir (RTV) i lopinavir/ritonavir (LPV/r) són els més relacionats amb el desenvolupament de resistència a la insulina. La diabetis és menys freqüent i la seva associació amb els IP no és constant en tots els estudis (Ledergerber B, 2007). El tractament amb d4T i ddl és un factor de risc pel desenvolupament de resistència a la insulina i a la diabetis. L'objectiu de la

Introducció

seva detecció i tractament va encaminat a evitar les complicacions a curt termini (hipoglucèmia, cetosi, cetoacidosi i estat hiperosmolar) i les complicacions micro i macrovasculars a llarg termini.

-cardiopatia isquèmica: la infecció VIH afegeix un risc addicional als factors de risc tradicionals de cardiopatia isquèmica. Les alteracions metabòliques que produeix el tractament antiretroviral i d'altres factors encara no ben coneguts també s'hi han relacionat ([Martínez E, 2009](#)).

-alteració de la distribució del greix corporal (lipodistròfia): es caracteritza per la pèrdua de greix subcutani i l'acumulació de greix intraabdominal, mames i coll. L'afavoreixen especialment les pautes que contenen ZDV i d4T, mentre que la seva substitució per abacavir (ABC) o TDF la prevé o la millora. La lipodistròfia té repercussió tant física com psicològica ([Gesida, 2009](#)).

2. EPIDEMIOLOGIA

La infecció VIH afecta entre 30 i 36 milions de persones a tot el món ([ONUSIDA, 2008](#)). El nombre de persones infectades pel VIH a Espanya no es coneix amb exactitud, atès que només és obligatori declarar els casos de SIDA, però s'estima que el nombre de noves infeccions anuals oscil·la al voltant de 86,14 nous casos per milió d'habitants. El grau d'afectació de l'epidèmia és més gran en homes que en dones, tot i que el nombre de dones infectades continua en ascens ([SPNS, 2008](#)).

Durant l'any 2.008, a l'estat espanyol s'han diagnosticat un total de 1.283 casos de SIDA que, en comparació amb l'any 2.007, representa un 17% menys entre els homes i un descens inferior, del 11,6% en les dones. Els casos pediàtrics se situen en un 0,5%, estable respecte d'anys anteriors. La transmissió mare-fill es manté per sota dels 10 casos des de 2004, i s'estima en 6 casos pel 2.008 ([SPNS, 2008](#)).

La incidència de SIDA és un indicador per avaluar la freqüència i evolució d'estadis avançats de la infecció VIH en la població, a més d'avaluar l'eficàcia dels tractaments i el diagnòstic precoç de la infecció. Els casos de SIDA no informen dels casos d'infecció per VIH i es pot donar el cas que els casos de SIDA disminueixin considerablement mentre els casos d'infecció per VIH continuïn en augment. Des de l'inici del TARGA al 1996, la incidència de SIDA a l'estat espanyol ha disminuït un 80%, amb una disminució molt marcada els anys 1997-1999 i un descens més moderat d'aleshores ençà, fins l'actualitat, aconseguint situar-se a nivells similars a d'altres països de la Unió Europea. Tot i aquesta indubtable milloria de la situació respecte a èpoques passades, darrerament la tendència és a estabilitzar-se ([SPNS, 2008](#)).

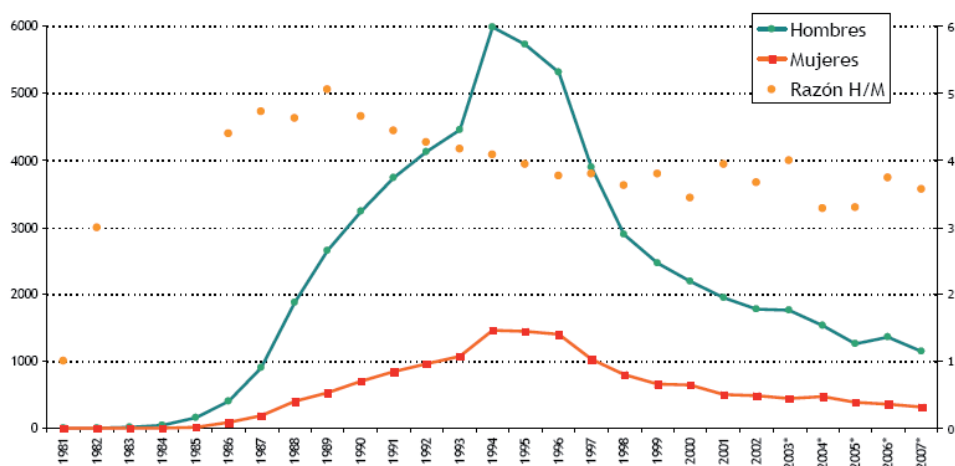


Figura 4: Evolució de la incidència de SIDA a Espanya per sexes, 1981-2007 (SPNS, 2008)

Entre les dones diagnosticades de SIDA el 2008, un 25,8% es va contagiar pel consum de drogues per via parenteral, però en més del 60% la transmissió va ser per via heterosexual. La proporció de persones diagnosticades de SIDA, que no coneixien el seu estat de portador del VIH, arriba fins a més d'un 30%, i en la majoria dels casos es tracta de persones que s'han contagiat per via heterosexual (SPNS, 2008).

Pel que fa referència a la comunitat autònoma catalana, des del gener del 1.981 fins a finals de juny del 2.009, s'havien declarat 16.247 casos de SIDA. D'aquests, 13.067 són homes (80,4 %) i 3.180 són dones (19,6 %). D'elles, 2.767 tenen entre 15 i 45 anys. La via de transmissió més freqüent entre les dones en el darrer any, seguint la tendència d'anys anteriors, ha estat l'heterosexual (74,5%) (CEESCAT, 2009).

Les dones es troben menys immunocompromeses, entenent com a immunocompromís un nombre de leucòcits CD4 menor a 200 cèl·lules/ml, que els homes en el moment del diagnòstic (33 envers 38,6%), probablement gràcies al cribatge sistemàtic prenatal. No obstant el percentatge de dones amb immunitat compromesa al moment del diagnòstic (CD4<350 cèl·lules/ml) no millora amb el pas del temps, més d'un 50% de les dones

diagnosticades l'any 2.007 es trobaven en aquesta situació i, per tant, ja haurien d'haver iniciat tractament antiretroviral. Quant a la immigració, la proporció de diagnòstics tardans entre les dones natives i les immigrants a Espanya ha estat el mateix (33%), tot i que més dones immigrants que espanyoles (60% envers 50%) eren susceptibles de rebre TARGA en el moment del diagnòstic ([SPNS, 2008](#)).

Ens trobem davant d'una malaltia amb una prevalença entre la població de dones embarassades de l'1,54‰ (IC 95%:1,44-1,64) ([SPNS, 2008](#)) que, per la magnitud de les seves conseqüències, suposa un problema de salut important entre la població de dones en edat reproductiva.

3. MANEIG DE LA DONA INFECTADA PEL VIH

Aproximadament la meitat de la població afectada per la infecció VIH al món correspon a les dones ([ONUSIDA, 2008](#)), la majoria d'elles es troben en edat reproductiva i moltes són identificades com VIH positives en el moment de l'embaràs. Aquestes dades s'han de tenir en compte tant des del punt de vista reproductiu (contraccepció i embaràs), com des del punt de vista de la infecció VIH.

L'experiència amb l'ús dels tractaments antiretrovirals ens ha demostrat que va associada a una sèrie de complicacions ([CDC, 2008](#)). Les dones metabolitzen i responen de forma diferent que els homes a algunes medicacions. Alguns estudis suggereixen que el sexe pot influenciar la freqüència, presentació i severitat d'alguns efectes adversos dels antiretrovirals.

3.1. Influència del sexe en la resposta al TARGA

El TARGA ha reduït la mortalitat de les persones amb SIDA, però l'interval de supervivència lliure de malaltia és més llarg per als homes que per a les dones ([Poundstone KE, 2001](#); [Mayer KH, 2003](#)). Una possible explicació seria les diferències entre els sexes en alguns factors relacionats amb el tractament: el moment d'inici del TARGA, la incidència d'efectes adversos o l'adherència als règims de tractament complexos o mal tolerats ([Umeh OC, 2006](#); [Prins M, 2005](#)).

La càrrega viral plasmàtica és més baixa en dones que en homes, tot i considerant els anys d'evolució de la malaltia i el recompte de CD4. Aquestes diferències són mínimes quan el nivell de CD4 és superior a 350 cel/ml ([Moore RD, 1999](#)) la qual cosa té poca importància alhora d'iniciar el tractament antiretroviral.

Alguns estudis suggereixen que la resposta al TARGA és més favorable en dones que en homes. Giordano i col ([Giordano TP, 2003](#)) demostren que l'increment mitjà de CD4 en 6 mesos és més gran en dones que en homes (+180 celx10⁶/L (SD 127) envers +122

celx10⁶/L (SD 100) p=0.02), tot i ajustar-ho per edat, presència de malalties definitòries de SIDA, nivell basal de CD4, nivell basal de càrrega viral i ús d'IP.

3.2. Influència del sexe en el moment d'inici del TARGA

Tot i tenint en compte el grup de risc, l'edat, la història de tractament antiretroviral previ, el nivell de CD4 i l'educació, sembla que les dones inicien més tard el TARGA que els homes (Mocroft A, 2000; Pugliese P, 2009). Les dones accepten pitjor la decisió d'iniciar el tractament antiretroviral.

Sembla que tot i que les dones accedeixen als tractaments més tard, no hi ha diferències en la supervivència si el nivell de CD4 no és inferior a 200cel/ml (Anastos K, 2004). Els estrògens i la progesterona regulen la replicació viral (Carosi G, 2009) però, una vegada inicien el tractament, no hi ha diferències de gènere immunoviològiques ni clíniques (Moore AL, 2003).

En països en que la prevalença de la infecció VIH és alta, el fet de prendre tractament antiretroviral s'associa a major desig reproductiu, però no s'associa a més gestacions o fetus vius. D'altra banda, l'optimisme que confereix en aquest tipus de població el fet d'estar en TARGA, s'associa a menys ús de mètodes barrera i també a una menor percepció de risc de transmissió horitzontal i vertical (Kaida A, 2009).

3.3. Diferències farmacocinètiques relacionades amb el sexe

Les dones tenen una major concentració o un aclariment reduït d'alguns antiretrovirals, la qual cosa les fa més susceptibles a la toxicitat associada als fàrmacs (Kathleen E, 2005) (Taula 1). Hi ha poques dades sobre la influència del cicle menstrual en la farmacocinètica dels antiretrovirals. Un estudi referent a la zidovudina no mostra diferències en relació a la fase del cicle menstrual estudiat (Cordaro JA, 1993).

Taula 1: Diferències farmacocinètiques d'alguns antiretrovirals en dones

Antiretroviral	Diferències per sexe (dones envers homes)
Amprenavir	No diferències
Atazanavir	Concentració mitja 20% superior
Indinavir	Concentració mínima en sèrum 20% superior
Lopinavir	Concentració mitja 20% superior
Nelfinavir	No diferències
Saquinavir	Major concentració i menor aclariment
Nevirapina	Major concentració i menor aclariment

3.4. Diferències en els efectes adversos en dones no embarassades

Les dades obtingudes de seguretat i toxicitat dels antiretrovirals han estat majoritàriament obtingudes d'estudis realitzats en homes. Les poques dones participants en els estudis no han permès establir diferències entre els sexes (Cotton DJ, 1993), tot i que nombrosos estudis observacionals suggereixen una incidència superior d'alguns efectes adversos en dones que en homes, la qual cosa podria d'alguna manera explicar la pitjor adherència de les dones al tractament. L'ús de anàlegs nucleòsids s'associa a major freqüència d'efectes adversos, entre ells l'acidosi làctica, que en un 83% dels casos afecta dones i un 85% de les morts que produeix són també de dones (Currier JS, 2007; Bolhaar MG, 2007; Geddes R 2006). Els règims que contenen nevirapina, provoquen 7 vegades més eritema cutani en dones que en homes (Bersoff-Matcha SJ, 2001) i 9,8 vegades més alteracions hepàtiques quan el règim que conté NVP s'inicia en dones amb un recompte de limfòcits T CD4 >250 cel/mm³ (Baylor MS, 2004). Per altra banda, els règims que contenen alguns inhibidors de les proteases donen més efectes gastrointestinals en dones com nàusees i vòmits (Gersten

M, 1997). El risc d'infart de miocardi és més gran per als homes (Friis-Møller N, 2003) mentre que l'acumulació de greix a nivell de tòrax i abdomen és més freqüent en dones (Sorli-Redó ML, 2007).

El mecanisme precís que expliqui les diferències entre els sexes no es coneix, però la diferent farmacocinètica i el pes juguen un paper important en el desenvolupament dels efectes secundaris, relacionats amb la major concentració de fàrmac i la disminució del seu aclariment.

3.5. Complicacions metabòliques associades al tractament antiretroviral en dones

El TARGA s'ha associat a diferents alteracions metabòliques com la distribució anormal del greix, la hiperglucèmia, la dislipèmia i les alteracions òssies. Algunes, com ara la lipodistròfia, es manifesten més freqüentment en dones (Martínez E, 2001).

La lipodistròfia és més freqüent en les dones que en els homes tractats amb antiretrovirals (Martínez E, 2001; Galli M, 2003; Sorli-Redó ML, 2007) mentre que les dones són menys susceptibles l'increment dels triglicèrids durant el tractament. Les dones tenen un risc d'osteopènia/osteoporosi incrementat, principalment després de la menopausa (Yin M, 2005; Brown TT 2007).

Les dones amb sobrepès, edat avançada i sotmeses a tractaments amb inhibidors de les proteases tenen un risc elevat de desenvolupar diabetis (Justman JE, 2003).

Cap d'aquestes diferències requereix de moment un canvi en les recomanacions o monitoratge del tractament (CDC, 2008), però sí que denoten la necessitat d'una atenció més personalitzada en la cura de les malalties infectades pel VIH.

4. EL VIH EN OBSTETRÍCIA

Durant els primers anys de l'epidèmia, els esforços del col·lectiu mèdic es van centrar en l'epidemiologia de la infecció pel VIH, la supervivència dels malalts i el tractament de les infeccions oportunistes i neoplàsies associades a la infecció VIH. Simultàniament, la transmissió vertical del virus, transmissió mare-fill, va sorgir com un nou problema associat a l'epidèmia.

Posteriorment, avenços com la càrrega viral (CV) i el recompte de limfòcits T CD4+ i l'aparició del TARGA van canviar el concepte de la SIDA, que va passar de ser una malaltia indefectiblement mortal a convertir-se en una malaltia crònica. La utilització del TARGA combinat amb estratègies més estrictament obstètriques (evitar procediments invasius, alletament artificial, cesària electiva...) han fet que pràcticament desaparegui la transmissió vertical del virus, que constituïa el principal problema obstètric.

En l'actualitat, gràcies als avenços en la infecció VIH, els problemes per resoldre en obstetrícia han sofert un canvi espectacular, i han aparegut noves patologies i necessitats assistencials que fins fa poc temps ni tan sols es plantejaven.

4.1. La fertilitat en la dona infectada pel VIH

Sembla que la fertilitat de la dona infectada pel VIH podria estar reduïda. Estudis realitzats en països en desenvolupament troben una disminució de la fertilitat marcada en dones infectades pel VIH, la qual cosa es tradueix en un descens dels naixements ([Lewis JJ, 2004](#)). La freqüència de les relacions sexuals disminueix a mesura que la malaltia progressa i, així mateix, el nombre d'embarassos també disminueix amb el descens en el nombre de CD4 i el temps d'infecció. Comparant amb les dones seronegatives, les dones en estadi de SIDA són les que tenen les taxes d'embaràs més baixes (OR: 0,14 (95%CI 0,02-1,09) ([Ross A, 2004](#); [Sedgh G, 2005](#); [Gray GE, 2006](#)). També sembla que la taxa d'avortaments espontanis és més alta quan avança la progressió de la malaltia ([Ross A, 2004](#); [Gray GE,](#)

2006), la qual cosa ha suposat una disminució important dels naixements en els països en desenvolupament, on la prevalença de la infecció VIH és molt alta (Lewis JJ, 2004; Van der Spuy ZM, 2009).

Anys enrere, en els països desenvolupats, les pobres perspectives de futur de les persones infectades pel VIH, feien recomanable renunciar al desig de ser pares, tant per la possibilitat de la transmissió vertical del virus com per la probabilitat de deixar orfe aquest infant. La introducció del TARGA ha canviat el futur de les persones infectades, i no només no se'ls prohibeix la maternitat sinó que és ètic i de justícia (WHO, 2009) ajudar les parelles afectades per la infecció VIH a concebre els seus fills de la manera més segura possible (Shenfield F, 2004). El nombre de parelles en edat reproductiva que es troben amb aquest problema és cada dia més gran (ECS, 2005), i això fa que ens plantegem la manera d'evitar la transmissió horitzontal permetent la concepció.

Alguns individus no s'infecten tot i l'exposició continuada al virus (Rowland-Jones SL, 1995). Aquest és el cas d'algunes parelles en què només un dels dos membres està infectat pel VIH, que han mantingut relacions sexuals desprotegides durant un llarg període, bé pel desconeixement de la infecció o bé perquè no han pres les mesures oportunes per evitar el contagi. No es coneix amb exactitud quins són els factors que protegeixen aquests individus de la infecció. S'ha relacionat amb factors virals o amb la càrrega viral plasmàtica del membre infectat de la parella (Quinn TC, 2000), però també s'ha relacionat amb característiques genètiques de l'hoste que confereixen resistència a la infecció (Soriano A, 2002; Kaslow RA, 2005) i finalment també amb el desenvolupament d'una resposta immunològica a nivell sistèmic o local (mucosa cèrvico-vaginal) de tipus humoral o cel·lular que confereix protecció contra la infecció (Kaul R, 2000; Lopalco L, 2000). D'altres autors assenyalen com a cabdals en la defensa contra el virus l'alteració en el patró de distribució de les cèl·lules T, conseqüència dels canvis immunogènics durant l'exposició al virus (Lo Caputo S, 2003; Jennes W, 2003). Conèixer, doncs, quins són els factors implicats en la

defensa contra la infecció VIH en els individus exposats no infectats (ENI) resultaria definitiu a l'hora d'aconsejar les nostres parelles per aconseguir la concepció del seu fill sense risc de contagi horitzontal. Amb aquesta fita es va dissenyar l'estudi **Immunological Profile of Heterosexual Highly HIV Exposed Uninfected Individuals: Predominant Role of CD4 and CD8 T-Cell Activation**, per tal de determinar si la resposta immunològica de l'individu exposat no infectat es relaciona amb la càrrega viral de la seva parella.

4.2. Reproducció assistida en parelles afectes de la infecció VIH

Les parelles serodiscordants compostes per un home infectat pel VIH i una dona no infectada tenen un risc de transmissió del VIH per relació sexual que s'estima entre el 0,03 i el 1% (de Vincenzi I, 1994; TIPHG, 1999; Bujan L, 2007). En aquestes parelles està àmpliament demostrada l'eficàcia de l'aplicació de teràpies de reproducció assistida amb la utilització de la tècnica de rentat de semen, per tal d'aconseguir fills genèticament de la parella, minimitzant el risc d'infecció de la dona (Semprini AE, 1992; Gilling-Smith C, 2000; Ohl J, 2003; Garrido N, 2004; Bujan L, 2007). Recentment s'ha començat a plantejar la possibilitat de la concepció natural en aquells casos d'homes amb TARGA amb o sense una càrrega viral indetectable. Així doncs, les recomanacions suïsses sobre reproducció assistida en parelles serodiscordants encoratgen les relacions sexuals desprotegides en dia fèrtil (Vernazza P, 2008). Menys agosarats, el grup de Barreiro i col suggereixen que les relacions sexuals desprotegides en dia fèrtil en casos seleccionats (TARGA, més de 6 mesos amb càrrega viral indetectable) poden aconseguir gestacions, sense risc de transmissió horitzontal del virus (Barreiro P, 2006; Barreiro P, 2007). Tenint en compte que amb càrrega viral plasmàtica imperceptible és encara possible la transmissió del virus (Stürmer M, 2008), les recomanacions espanyoles continuen assenyalant com a opció més segura la tècnica de rentat de semen (SPNS, 2008).

En el cas de la dona infectada pel VIH, a més del risc de transmissió horitzontal, entren en consideració d'altres aspectes, com la possibilitat de la transmissió vertical del virus i els possibles efectes secundaris del tractament antiretroviral per al fetus. Aquests aspectes fan que la introducció de la dona en teràpies de reproducció assistida hagi estat més discutida (Shenfield F, 2004; Sauer MV, 2003). Actualment aquestes raons perden pes davant d'una taxa de transmissió al voltant de l'1% (ECS, 2005), aconseguida des de la introducció del TARGA, la via de part adequada a cada pacient i l'alletament artificial. D'altra banda, no sembla que la medicació antiretroviral incrementi la taxa de malformacions (ECS, 2005; Patel D, 2005; Townsend CL, 2009).

Alguns estudis epidemiològics suggereixen que les dones infectades pel VIH tenen disminuïda la seva fertilitat (Lewis JJ, 2004; Ross A, 2004; Stephenson JM, 1996; De Vincenzi I, 1997; Gray RH, 1998) però, en realitat, la informació en aquest sentit entre la població de països desenvolupats on els pacients reben TARGA, no queda ben definida. S'han descrit també alteracions de la menstruació en dones amb nivells de CD4 baixos (Hinz S, 2002). En el mateix sentit, altres estudis fan referència a una fallida ovàrica precoç, o resistència a l'estimulació ovàrica (Clark RA, 2001; Englert Y, 2004). D'altra banda, s'ha descrit una freqüència 10 vegades superior d'infeccions genitals amb les conseqüents seqüeles en dones infectades pel VIH (Sobel JD, 2000). És a dir, la disminució de la fertilitat en la dona VIH pot venir donada tant per una insuficiència ovàrica com per l'obstrucció causada per les infeccions.

Es fa difícil, doncs, tenir una idea real de la fertilitat de la dona infectada pel VIH en els països desenvolupats, per això se'ns va plantejar la possibilitat de realitzar un estudi dels factors implicats en la fertilitat de les parelles en què la dona està infectada pel VIH en el moment en què s'adrecen al professional clínic per tal de rebre assessorament preconcepcional: **Fertility assessment in non-infertile HIV infected women and their partners.**

Observacions personals feien sospitar, també, una menor fertilitat de la dona VIH sotmesa a tècniques de reproducció assistida, si bé les dades disponibles en relació a tècniques de reproducció assistida en dones infectades pel VIH són escasses. Ohl i col. al 2003 (Ohl J, 2003) suggeria una taxa d'embarassos després de FIV amb microinjecció espermàtica (FIV-ICSI) disminuïda en relació a la població general. La mateixa autora, en un article posterior, refereix no obtenir cap embaràs en 10 inseminacions intrauterines, mentre que mostra unes taxes acceptables, si bé més baixes que la població general després de FIV-ICSI. La taxa d'embaràs clínic per cicle de FIV va ser del 23,2% amb un 22,2% de nens a casa per parella tractada (Ohl J, 2005). Així mateix, Terriou i cols (Terriou P, 2005), en la seva sèrie de FIV-ICSI en dones infectades pel VIH, mostren una major taxa de cicles cancel·lats i la necessitat de major nombre d'unitats de FSH per tal d'aconseguir unes taxes d'embaràs fins i tot inferiors que la població no infectada (16,1%). Podem concloure que la infecció VIH, ja sigui per la pròpia infecció o pel tractament antiretroviral, sembla tenir un impacte negatiu sobre el procés reproductiu, difícil d'avaluar amb la metodologia emprada fins ara.

No és fàcil trobar un bon model per estudiar la fertilitat de la dona infectada pel VIH perquè les cohorts de dones embarassades que arriben a les nostres consultes obstètriques no responen a la pregunta, ja que no inclouen les dones que estan buscant embaràs sense aconseguir-ho.

La fertilització *in vitro* sembla ser un bon model per comparar la fertilitat de la dona infectada envers la no infectada atès que es tracta d'un fet i d'unes variables totalment controlables, amb una població control d'ídèntiques característiques. Partint d'aquest supòsit i en el marc general d'aquesta memòria es va plantejar l'estudi **Decreased pregnancy rate after in vitro fertilization in HIV-infected women receiving highly active antiretroviral therapy**. La possibilitat de disposar del model de donació d'òcits ens permetria aprofundir en els possibles factors implicats en la suposada menor fertilitat de les dones infectades.

Arran d'aquest estudi, la següent pregunta que es va plantejar el grup de treball va ser si el responsable d'aquesta suposada menor fertilitat de la dona infectada pel VIH podia estar relacionat amb la toxicitat del tractament antiretroviral atès el conegut efecte dels NRTI sobre el DNA mitocondrial (López S, 2004; Miró O, 2003).

L'oòcit és la cèl·lula humana més gran i aproximadament un 23% del seu ooplasma està ocupat per mitocondris. D'altra banda coneixem que la dotació mitocondrial de l'oòcit és bàsica per als bons resultats en reproducció assistida i serveix de marcador de qualitat de l'oòcit, explicant alguns casos de no-fertilització entre la població no infectada pel VIH (Santos TA, 2006). L'oòcit és una cèl·lula postmitòtica, per la qual cosa no té capacitat de reparació del possible dany mitocondrial causat per l'efecte del tractament i, per tant, l'oòcit danyat tindria menys capacitat energètica per sobreviure i desenvolupar correctament un embrió. A partir d'aquests supòsits i seguint la línia d'estudi d'aquesta memòria es va dissenyar l'estudi **Mitochondria DNA depletion in oocytes in HIV infected antiretroviral treated infertile women** per tal d'establir si existia una depleció del DNAmt en els oòcits de la dona infectada pel VIH amb TARGA.

4.3. Transmissió Vertical del VIH

La transmissió vertical (TV) del VIH, en absència de mesures preventives en dones no tractades, es produeix en un 14-25% dels casos. La TV es pot produir durant l'embaràs (25-40%), l'intrapart (60-75%) (Newell ML, 1998) i durant la lactància materna, supòsit en que s'incrementa el risc un 14% en casos de malaltia ben establerta i un 29% en casos de primoinfecció (Dunn DT, 1992).

La TV del VIH s'associa a diferents factors en major o menor grau:

- *Factors materns*, com la primoinfecció durant l'embaràs, l'estat avançat de la malaltia, o el tractament antiretroviral de la mare (Paintsil E, 2009).

- *Factors virals*, com la capacitat de replicació del virus ([Kittinunvorakoon C, 2009](#)) i la càrrega viral materna. Aquest darrer és el factor majoritàriament associat a la transmissió vertical en tots els estudis. Existeix una relació lineal entre taxa de transmissió i CV, però sense un nivell per sota del qual no existeixi risc de transmissió ([Coll O, 1997](#); [Newell ML, 1997](#); [Ioannidis JP, 2001](#)), tot i que la TV es fa molt poc freqüent per sota de les 400 còpies/ml ([Cooper ER, 2002](#)). Estudis previs a la introducció del TARGA mostraven la CV materna, influenciada pel tractament amb ZDV i el nombre de limfòcits CD4, la via de part i l'edat gestacional al part com els principals factors de risc de transmissió ([Newell ML, 1997](#)). El mateix grup, però ja en l'època de TARGA, troba novament com a principal factor de risc la CV plasmàtica ([ECS, 2005](#)).
- *Factors obstètric*, com part vaginal, realització d'episiotomies, parts instrumentats, realització de proves invasives com amniocentesi o biòpsia de còrion, monitoratge intern del fetus, corioamnionitis, temps perllongat de bossa trencada, baix pes per edat gestacional i prematuritat ([Paintsil E, 2009](#)). S'ha de considerar que els únics factors obstètrics que s'han relacionat de manera consistent amb el risc de transmissió són la via de part i la ruptura prematura de membranes amniòtiques. Els procediments invasius com l'amniocentesi o les micropreses de calota fetal, entre d'altres ([Mandelbrot L, 1996](#)), semblen tenir un risc teòric de transmissió iatrogènica de la infecció. Es desconeix, però, la contribució específica de cadascun d'ells, atès que s'han estudiat de forma conjunta, i per això s'intenta reduir el nombre de procediments, realitzant-los tan sols en els casos en què el benefici de la indicació superi el risc de transmissió, és a dir, amb una indicació específica i ben fonamentada com pot ser un risc elevat d'anomalies cromosòmiques ([ECS, 1999](#); [Hawkins D, 2005](#)).

- *Coinfeccions maternes*, com la malària, o d'altres infeccions de transmissió sexual. (Paintsil E, 2009)
- *Alletament matern*, ja des de la publicació de Dunn i col (Dunn DT, 1992) l'any 1992, va quedar clar el increment de risc en dones que alletaven als seus fills, ja sigui lactància materna exclusiva o bé mixta. Múltiples estudis posteriors han corroborat aquest fet (Paintsil E, 2009; Liang K, 2009), per la qual cosa països com el nostre, on l'alletament artificial no suposa un problema, es prohibeix l'alletament matern a les dones infectades pel VIH, tot i estar en TARGA i tenir CV imperceptible.
- *Altres factors*, com el sexe del fetus (s'infecten més les nenes que els nens) (Galli L, 2005), les gestacions múltiples (Scavalli CP, 2007), el HLA concordant entre mare i fetus, la presència de la mutació CCR5 D32 en els limfòcits T dels nens exposats (Paintsil E, 2009), la presència d'anticossos neutralitzant materns contra CRF01-AE (Samleerat T, 2009) i els polimorfismes de la β -defensina 1 en mare i fill (Ricci E, 2009)

D'altres estudis recents com el de la cohort francesa apunten que en una embarassada a terme, amb una càrrega viral plasmàtica inferior a 400 còpies/ml, l'únic factor associat a la disminució de la TV és el temps de tractament antiretroviral. No troben associació amb el tipus de tractament emprat ni amb la via de part (Warzawski J, 2008). En la mateixa línia, un estudi del Regne Unit assenyala que per cada setmana de tractament la disminució de la TV podria arribar a ser d'un 10%, ajustat per càrrega viral i via de part (Townsend CL, 2008).

4.4. El tractament antiretroviral durant l' embaràs

L'any 1994 es va publicar l'estudi ACTG 076 (Connor EM, 1994), que va demostrar l'eficàcia de la zidovudina en la reducció de la taxa de TV. En aquest estudi les mares iniciaven el tractament amb ZDV entre la setmana 14 i la 28 d'embaràs, i es va veure que el tractament

s'associava a una reducció de la virèmia materna de 0,24 log al moment del part ([Sperling RS, 1996](#)), reduint la TV del 25,5% en el grup tractades amb placebo fins al 8,3% en el grup de ZDV ([Connor EM, 1994](#)), tot i que la ZDV es mostrava efectiva en la reducció de la TV amb qualsevol valor de la càrrega viral. Aquesta publicació va suposar la introducció del tractament antiretroviral en el maneig de la dona embarassada sense els estudis de seguretat requerits habitualment per la introducció d'una nova estratègia de tractament en embarassades.

Tot i que la majoria d'antiretrovirals són relativament segurs i ben tolerats durant l'embaràs, disposem de poques dades sobre la seguretat d'alguns fàrmacs o combinacions de fàrmacs i per això cal prescriure'ls amb molta precaució. L'efavirenz, per exemple, està contraindicat. El maneig adequat de l'embarassada infectada pel VIH requereix d'un balanç entre la necessitat de tractament per la pròpia malaltia, la necessitat de minimitzar el risc de TV i els possibles efectes secundaris per al fetus i per al nou nat.

El tractament de l'embarassada anirà encaminat no només a reduir la TV sinó a perllongar i millorar la seva qualitat de vida, disminuir la càrrega viral plasmàtica i preservar o restaurar la funció immunològica.

Des del 1994, s'ha avançat molt en l'estudi de la patogènesi, tractament i seguiment de la infecció pel VIH. La magnitud i rapidesa de la replicació del virus és tan gran (s'estima que la vida mitjana dels virions en plasma és de tan sols 6 hores, ([Perelson AS, 1996](#))) que ha originat el desenvolupament d'una estratègia de tractament combinat que garanteixi la màxima supressió de la replicació viral, amb un desenvolupament mínim de resistències als fàrmacs i la preservació de la funció immunològica ([Havlir DV, 1996](#)).

La introducció a partir del 1996 del TARGA en el tractament de l'adult i la milloria espectacular dels resultats obtinguts, va fer que en pocs anys es generalitzés el tractament

també a la dona embarassada tot i que l'evidència de la seva eficàcia es basa principalment en estudis observacionals ([Cooper ER, 2002](#)) i en l'estudi ACTG 316 ([Dorenbaum A, 2002](#)).

Un estudi no randomitzat va avaluar l'eficàcia d'afegir 3TC al tractament amb ZDV, iniciant el tractament a les 32 setmanes. Aquest estudi va demostrar una reducció de la virèmia materna de 0,95 log₁₀ ([Mandelbrot L, 2001](#)), amb una taxa de TV del 1,6% davant del 6,8% en el grup històric tractat amb ZDV sola.

En un estudi longitudinal realitzat a Estats Units, iniciat l'any 1990, la taxa de TV del VIH va passar del 20% en l'era pretractament al 10,4% en les dones tractades amb ZDV sola i, finalment, al 3,8% en les dones que rebien teràpia combinada sense inhibidors de les proteases i a l'1,2% en pautes que incloïen IP ([Cooper ER, 2002](#)).

A partir de llavors, s'han realitzat múltiples estudis en diferents àmbits per tal d'avaluar la TV segons les característiques particulars de cada població (accessibilitat del tractament, tipus de lactància, via del part, ...).

Un estudi randomitzat doble cec, realitzat a Estat Units, Europa, Brasil i Bahamas (PACTG 316), va avaluar l'eficàcia de l'administració de nevirapina en dosi única durant el part i el postpart al nونات en poblacions que rebien tractament antiretroviral adequat, i no va trobar diferències entre el grup de nevirapina i el grup placebo (1,4% vs 1,6%) ([Dorenbaum A, 2002](#)). Quant a l'eficàcia de pautes més senzilles aplicables a altres àmbits geogràfics amb limitacions terapèutiques, estudis tailandesos, on la població tampoc no lacta els seus fills, han demostrat l'eficàcia de la ZDV en la prevenció de la TV tot i que només s'administri de la setmana 36 d'embaràs fins al part ([Shaffer N, 1999](#)). Un altre estudi tailandès va comparar pautes curtes i llargues de ZDV abans i després del part a mare i nadó, i va mostrar una TV del 4,7% en les pautes curtes, és a dir, administració de ZDV a partir de la setmana 36

d'embaràs i 3 dies postpart al nadó (Lallemant M, 2000), un resultat encoratjador per als països en vies de desenvolupament.

Estudis en poblacions que lacten els seus fills, s'han centrat més en l'administració de NVP en pautes curtes. Així, l'estudi HIVNET 012, realitzat a Uganda (Guay LA, 1999), compara l'eficàcia de la ZDV durant el part i una setmana postpart i la NVP en dosi única al part i al nadó i conclou que la nevirapina resulta un 47% més efectiva en la reducció de la TV que la pauta curta de ZDV ($p=0.00063$). El South African Intrapartum Nevirapine Trial (SAINT) (Leroy V, 2005) compara l'administració d'una dosi simple de NVP al part i 48 hores postpart al nadó amb l'administració de ZDV i 3TC oral durant el part i una setmana postpart al nadó, sense trobar diferències estadísticament significatives entre ambdues pautes. L'estudi PETRA (Petra study team, 2002) compara l'administració de ZDV i 3TC en diferents pautes durant embaràs, part i postpart i conclou que la profilaxi de la TV amb pautes curtes ha d'anar acompanyada d'estratègies de profilaxi postpart per tal de disminuir les transmissions per la lactància materna.

En el nostre àmbit, en què les dones tenen accés al tractament antiretroviral, reben una adequada assistència a l'embaràs i el part i no lacten els seus fills, la taxa estimada de TV se situa entre 1-2% (Thorne C, 2005; Boer K, 2007; ECS, 2006; Warzawski J, 2008).

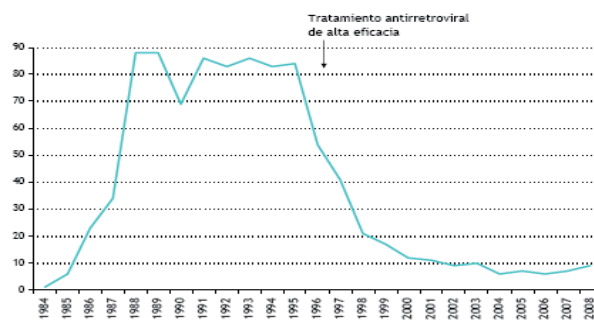


Figura 5: Casos de SIDA a Espanya de transmissió mare-fill. Registro Nacional de Sida. Actualització 31 de desembre 2008.

4.5. Toxicitat del tractament antiretroviral en la dona embarassada

El tractament antiretroviral comporta un risc de toxicitat. Tot i que alguns efectes secundaris són més freqüents a l'inici del tractament amb un fàrmac, el risc en general augmenta amb el temps. La cohort suïssa (Lorenzi P, 1998) descriu una prevalença del 80% d'efectes adversos, en mares tractades, que inclouen anèmia, alteracions gastrointestinals, elevació dels enzims hepàtics i hiperglucèmia.

S'han descrit efectes indesitjables associats a cada família d'antiretrovirals.

Es relaciona l'ús dels *inhibidors de la transcriptasa inversa nucleòtids*, afins a la DNA-γ polimerasa mitocondrial, a disfuncions mitocondrials. Aquestes es poden manifestar com a miopaties, cardiomiopaties, neuropaties, acidosi làctica o fetge gras (Mandelbrot L, 2003). També s'han descrit morts maternes en embarassades tractades durant un temps perllongat amb aquest tipus de fàrmacs, principalment amb l'associació d'estavudina i didanosina (d4T i ddl) (Warning, 2001). L'acidosi làctica i l'esteatosi hepàtica es dona més freqüentment en dones amb un defecte heterozigot del metabolisme dels àcids grassos mitocondrials embarassada d'un fetus portador del mateix defecte en homozigosi (Ibdah JA, 2000). Els símptomes durant l'embaràs són similars a la síndrome de HELLP o l'esteatosi hepàtica (Warning, 2001), per la qual cosa sovint es fa difícil el seu diagnòstic. També s'ha suggerit que la disfunció mitocondrial pot afectar els fills de mares tractades amb aquests fàrmacs durant l'embaràs (Blanche S, 1999), si bé sembla que esdevindria l'excepció més que la norma (TPSRWG, 2000). S'ha constatat una disminució del DNA mitocondrial en els fills de mares tractades amb antiretrovirals durant l'embaràs que persisteix durant els dos primers anys de vida (Poirier MC, 2003). També es constata en diferents estudis un increment del lactat en fills de mares tractades amb antiretrovirals durant l'embaràs (Giaquinto C, 2001; Noguera A, 2004). L'efecte d'aquestes variacions a llarg termini en la salut del nadó encara no està ben establert. D'altres estudis han demostrat la depleció mitocondrial a nivell de la placenta de fetus exposats a antiretrovirals, tot i que no afecta la seva morfologia

(Gingelmaier A, 2009). En el mateix estudi també s'estableix una relació inversa entre els nivells de lactat en sang del nounat i el nombre de còpies del DNA mitocondrial a nivell placentari. En qualsevol cas, el benefici del tractament en la disminució de la transmissió vertical supera en escreix els possibles efectes de la depleció mitocondrial.

També s'han relacionat els anàlegs nucleòtids amb la lipodistròfia. Les causes de la lipodistròfia són múltiples (Martínez E, 2001) i sembla que s'associa més a la utilització d'anàlegs de la timidina (estavudina més que zidovudina) que a d'altres fàrmacs (Barragan P, 2006). La lipodistròfia es caracteritza per la pèrdua de greix perifèric amb acumulació de greix a nivell d'abdomen, mames i coll. L'etiopatogènia és desconeguda i, malgrat que s'associa amb el tractament antiretroviral, no queda clar si aquest és l'única causa del problema (Gesida, 2009). La presència de lipodistròfia augmenta amb el temps de tractament (Martínez E, 2001).

L'inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleòsid més utilitzat en l'embarassada és la nevirapina, atès que l'efavirenz està contraindicat per ser teratogènic (Watts DH, 2006). L'efavirenz s'associa a defectes del tub neural, com la síndrome de Dandy-Walker o els mielomeningoceles, per la qual cosa s'ha classificat com a fàrmac de la categoria D (clara evidència de risc fetal) (Safety and toxicity, 2009). La nevirapina ha demostrat ser un fàrmac molt eficaç en la prevenció de la TV, tant en pautes ultracurtes (dosi única al moment del part i una dosi al nadó), molt emprades en el món en desenvolupament pel seu baix cost, com formant part de pautes combinades. L'efecte secundari més important d'aquest grup és l'exantema i la hipertransaminasèmia, que en general són lleus o moderats, i són infreqüents els casos de síndrome de Stevens-Johnson i d'hepatitis greus, que, en especial, es relacionen amb l'ús de la NVP en dones que inicien el tractament amb nivells de CD4>250 cel/ml, situació molt freqüent entre les embarassades que inicien tractament com a profilaxi de TV (Hitti J, 2004; Joy S, 2005).

Els efectes secundaris més freqüents de la família dels *inhibidors de les proteases* són la dislipèmia i la resistència a la insulina. La dislipèmia es pot manifestar en forma de hipertrigliceridèmia, hipercolesterolèmia i disminució de HDL-colesterol (Martínez E, 2001; Rubio R, 2002). La resistència a la insulina sol ser asimptomàtica, tot i que pot manifestar-se com una diabetis en un 2% dels pacients (Dube MP, 2000) i en el cas de les embarassades facilita el desenvolupament de diabetis gestacional (Justman JE, 2003). Aquestes alteracions metabòliques solen ser més freqüents en pacients amb alteracions de la distribució del greix corporal. A curt termini no s'observa una major incidència de malaltia cardiovascular però estudis de cohorts han demostrat que el TARGA de llarga duració és un factor de risc independent pel desenvolupament de cardiopatia isquèmica, particularment quan inclou IPs (DAD study group, 2007).

La incidència de problemes cardiovasculars entre les persones infectades pel VIH és baixa, però sí que és més alta que entre la població no infectada. Això és degut, probablement, a una major incidència dels factors de risc clàssics de malaltia cardiovascular en aquesta població. A més, el fet d'estar infectats pel VIH contribueix d'una forma directa mitjançant l'activació del sistema immunològic i la inflamació, indirectament a través de la immunodeficiència, i, de forma molt més modesta el tipus de tractament antiretroviral, al desenvolupament de malaltia cardiovascular, a través del seu impacte en els paràmetres metabòlics i grassos i, possiblement també, a través d'altres factors que desconeixem (Martínez E, 2009).

4.6. Alteracions farmacocinètiques dels antiretrovirals durant l'embaràs

Les concentracions d'indinavir, lopinavir/ritonavir, nelfinavir i saquinavir són més baixes i variables en la dona embarassada (Angel JB, 2001; Kosel BW, 2003), possiblement per la inducció dels enzims hepàtics, canvis en el trànsit gastrointestinal, increment de l'aigua i

lípidis i els canvis en les proteïnes transportadores d'aquestes drogues durant l'embaràs (Best BM, 2008).

No es disposa de dades concloents pel que fa als IP de comercialització més recent. El saquinavir i atazanavir potenciats amb ritonavir, semblen els fàrmacs menys afectats per l'embaràs i per tant haurien de ser els de primera elecció (van der Lugt J, 2008).

5. Complicacions Obstètriques

Les dones infectades pel VIH tenen un risc augmentat de pèrdues espontànies d'embaràs (Broklehurst P, 1998) que s'associa directament a l'estadiatge de la malaltia i inversament al nombre de CD4 i al temps d'infecció (Ross A, 2004).

Estudis realitzats abans de la introducció del tractament antiretroviral mostraven un increment de mals resultats obstètrics en dones infectades pel VIH, entenenent com a tals la taxa de prematuritat augmentada, els nou nats de baix pes i retards de creixement. Així, en el metanàlisi realitzat per Broklehurst el 1998 (Broklehurst P, 1998), en què la majoria dels estudis inclosos estaven realitzats en països en desenvolupament, es mostrava un OR per mort intrauterina de 3,91 (95% CI 0,63-1,93), per retard de creixement intrauterí de 1,7 (95% CI 1.43-2.02), per baix pes de 2.09 (95% CI 1,86-2,35) i prematuritat 1,83 (95% CI 1,63-2.06). Un estudi realitzat a Estats Units també mostra una taxa major de nounats de baix pes (OR:2,11 CI95% 1,68-2,64), retard de creixement intrauterí (OR:1,66 IC 95% 1,26-2,19) i de prematuritat (OR:1,8 CI95% 1,45-2,38) entre les dones infectades pel VIH (Ellis J, 2002). En l'estudi de Lambert (Lambert JS, 2000) en canvi, no sembla que la taxa de retards de creixement, baix pes i nombre de prematurs s'associï a factors diferents dels de les dones no infectades. No troba associació entre l'estat immunitari matern i la càrrega viral materna i els mals resultats obstètrics en dones tractades amb antiretrovirals, majoritàriament amb ZDV sola.

Tampoc no s'ha demostrat un increment en la taxa de malformacions (Brocklehourst P, 1998) en fills de mares infectades (Patel D, 2005; Townsend CL, 2009).

La introducció del TARGA s'associa en estudis europeus a un increment en la taxa de prematuritat. La cohort suïssa (Lorenzi P, 1998) descriu un increment de la prematuritat, tant en mares tractades amb IP com sense, en relació a mares no tractades (OR 2,7 i 2,3

respectivament) i el Grup Col·laboratiu Europeu també troba associació entre prematuritat i TARGA, tot i ajustar-ho per nombre de limfòcits T CD4 i ús de drogues il·legals (TARGA sense IP OR 1,8 (95%IC 1,1-2,9) i TARGA amb IP OR 2,6 (95%IC 1,4-4,8)) (ECS, 2000). El mateix grup, en un estudi posterior, troba una major associació amb prematuritat severa (<34 setmanes) quan el tractament s'inicia abans de l'embaràs OR 4,41 (95% CI 2.06-9,41) (ECS, 2004). Altres estudis europeus més recents troben resultats similars (Boer K, 2007; Townsend CL, 2007; Grosch-Woerner I, 2008). Les cohorts americanes, en canvi, no trobaven diferències entre les dones tractades amb ZDV sola i les tractades amb TARGA (estudi PACTG 185) (Lambert JS, 2000). Tampoc en l'estudi WITS (Women and Infants Transmission Study) i d'altres estudis no es trobaven diferències entre les dones tractades, ja sigui amb ZDV sola o bé amb teràpies combinades amb o sense IP (Cooper ER, 2002; Toumala RE, 2005). Recentment, però, un grup de Miami ha mostrat un increment en la taxa de prematuritat en les dones tractades amb pautes combinades amb inhibidors de les proteases durant més de 10 setmanes durant l'embaràs comparat amb les dones que reben teràpies combinades sense inhibidors de les proteases (33,6% vs 21,2% p=0.008) (AOR 1,8 95% IC 1,1-3.0) (Cotter AM, 2006).

El metanàlisi de Kourtis (Kourtis AP, 2007), que inclou estudis realitzats tant als Estats Units com a Europa, no troba un increment de la prematuritat en les dones tractades amb antiretrovirals (OR 1.01 IC 95% 0.76-1,34), tot i que observa una lleugera tendència a l'increment en aquelles pautes que inclouen IP (OR 1,24 IC 95% 0,76-2,02). Sí que troba associació entre l'inici precoç del TARGA i l'increment de prematuritat (OR 1,71 IC 95% 1,09-2,67), resultat similar al que ha observat recentment Machado i col (TARGA iniciat abans de la concepció s'associa a un increment de la prematuritat OR 5.0 IC 95% 1.5-17.0) (Machado ES, 2009) i ja descrit en el treball del Grup Col·laboratiu Europeu l'any 2004 (ECS, 2004).

Malgrat les discrepàncies sobre l'efecte del tractament antiretroviral combinat sobre la taxa de prematuritat i fins a disposar de més dades, no sembla escaient canviar les pautes de tractament habitual.

Un altre aspecte discutit àmpliament és l'efecte dels antiretrovirals en el pes al naixement. Diversos estudis han intentat establir una associació clara entre el TARGA i el baix pes per edat gestacional. En l'estudi de Machado i col troben associació entre TARGA iniciat abans de la concepció i un major risc de baix pes al naixement (OR 3,6 IC95% 1,7-7,7) ([Machado ES, 2009](#)), si bé en l'estudi del grup francès, on els resultats s'ajusten per moment de naixement, tipus d'antiretroviral utilitzat i exclouen de l'anàlisi els nens infectats, els fills de mares no controlades durant l'embaràs, els fills de mares usuàries de drogues il·legals i els nascuts morts, no es troben diferències en la taxa de baix pes per edat gestacional entre els fills de mares amb TARGA i els fills de mares tractades amb mono o biteràpia (OR 1,04 IC 95% 0,77-1,42), però sí que hi ha diferència entre els fills de mare infectada pel VIH i fill de mare no infectada ([Briand N, 2009](#)).

El Grup Col·laboratiu Europeu descriu també un increment en la taxa de fetus morts i preeclàmpsia en els fills de mare infectada pel VIH, tot i no especificar la seva incidència ([ECS, 2003](#)). Toumala i cols, en canvi, troben un descens del nombre de fetus morts en dones tractades amb antiretrovirals ([Toumala RE, 2005](#)).

5.1. La preeclàmpsia

La preeclàmpsia (PE) és una malaltia multisistèmica, de causa desconeguda, que només s'esdevé en l'espècie humana ([Sibai B, 2005](#)). Es caracteritza per una resposta vascular anormal a la placentació, activació de l'agregació de les plaquetes, activació del sistema de coagulació i disfunció de l'endoteli. La clínica de la preeclàmpsia es manifesta per alteracions maternes (hipertensió, proteïnúria amb o sense afectació sistèmica) amb o sense síndrome fetal (restricció del creixement) ([Sibai B, 2008](#)). La major morbimortalitat materna i

fetal d'aquesta malaltia es dona en els casos de presentació més precoç, en aquells en què existeix una malaltia de base i quan es presenta en països subdesenvolupats (Sibai B, 2005).

S'han suggerit múltiples etiologies per la preeclàmpsia, com l'alteració de la invasió trofoblàstica per les artèries uterines, la intolerància immunològica entre el complex fetoplacentari i la mare, la mala adaptació cardiovascular als canvis de l'embaràs, les alteracions inflamatòries de l'embaràs, els dèficits dietètics i les anomalies genètiques (Sibai B, 2003; Sibai B, 2008).

La fisiopatologia de la preeclàmpsia és també complexa i s'han desenvolupat múltiples teories per tal d'explicar-la. Entre elles s'inclouen la isquèmia placentària, el vasoespasme generalitzat, l'hemostàsia anormal amb activació del sistema de coagulació, la disfunció de l'endoteli vascular, l'alteració del metabolisme dels lípids i de l'òxid nítric, l'activació leucocitària i els canvis en diverses citocines així com la resistència a la insulina (Dekker GA, 1998).

La preeclàmpsia és una complicació poc freqüent de l'embaràs en el nostre entorn, al voltant del 2-3% (Hernández-Díaz S, 2009), però es presenta amb una incidència més alta en països en desenvolupament, i també es relaciona la seva incidència amb la raça, sent més freqüent entre les dones de raça negra (Poon LC, 2009), cosa que s'ha relacionat amb aspectes nutricionals (Villamor E, 2006).

Estudis realitzats en països en desenvolupament han trobat poca o cap influència de la infecció VIH en el desenvolupament de preeclàmpsia. L'estudi realitzat a Sud Àfrica en dones sense tractament antiretroviral no troba diferències en la incidència en dones no infectades (5,2%) envers dones infectades pel VIH (5,7%), $p=0.61$ (Frank KA, 2004) i en un estudi realitzat a Brasil (Mattar R, 2004) es mostra un descens de la taxa de PE en dones tractades amb antiretrovirals. Aquest estudi atribueix el descens a una restitució incompleta de la immunitat que es produiria a expenses de l'increment més accentuat de la IL4, IL5 i

IL10 que es produeix de manera normal durant l'embaràs, mentre que no afectaria el patró de citokines implicades en la resposta inflamatòria que es produeix en la preeclàmpsia (citoquines Th 1).

Els estudis realitzats en països desenvolupats, més pròxims al nostre àmbit, situen la preeclàmpsia al capdavant de les complicacions obstètriques en dones infectades pel VIH en l'era del TARGA (ECS, 2003), seguit per les malformacions i les morts fetals sense indicar-ne la incidència real de cadascuna. La preeclàmpsia, en dones infectades que no prenen antiretrovirals és menys freqüent que en la població general (Stratton P, 1999) mentre que en les dones tractades la incidència se situa al mateix nivell (Wimalasundera RC, 2002). El treball de Wimalasundera (Wimalasundera RC, 2002) atribueix la disminució de la taxa de preeclàmpsia en dones infectades pel VIH en l'època de no tractament a un dèficit en la resposta immunològica provocada per la pròpia infecció. Troba una incidència de la malaltia més alta en dones amb TARGA que en dones no tractades o que reben mono o biteràpia (OR: 15,3 i 8.9 respectivament), mentre que no troba diferències entre el grup de tractades amb mono o biteràpia i les no tractades. Quan compara el grup de les tractades, tant amb TARGA com amb mono o biteràpia, amb les dones no infectades, no troba diferències, mentre que troba una diferència quasi significativa quan compara la baixa incidència de les no tractades envers les no infectades (OR:0.13 95% CI 0.01-2,3 p=0.07). En aquest estudi també es fa constar la gravetat de la majoria dels casos de PE (4 síndromes de HELLP i 3 morts intrauterines), així com la baixa associació amb la nul.liparitat i el canvi de parella, factors de risc per la preeclàmpsia en la població general (Sibai B, 2005). Els autors atribueixen la restauració dels nivells de preeclàmpsia en dones tractades a la restauració de la immunitat o també a la superposició d'aquesta i els efectes secundaris del tractament.

L'angiogènesi i la resistència a la insulina, factors de risc de preeclàmpsia, tenen un efecte additiu en l'augment de risc (Thadhani R, 2004). La preeclàmpsia s'ha associat a una

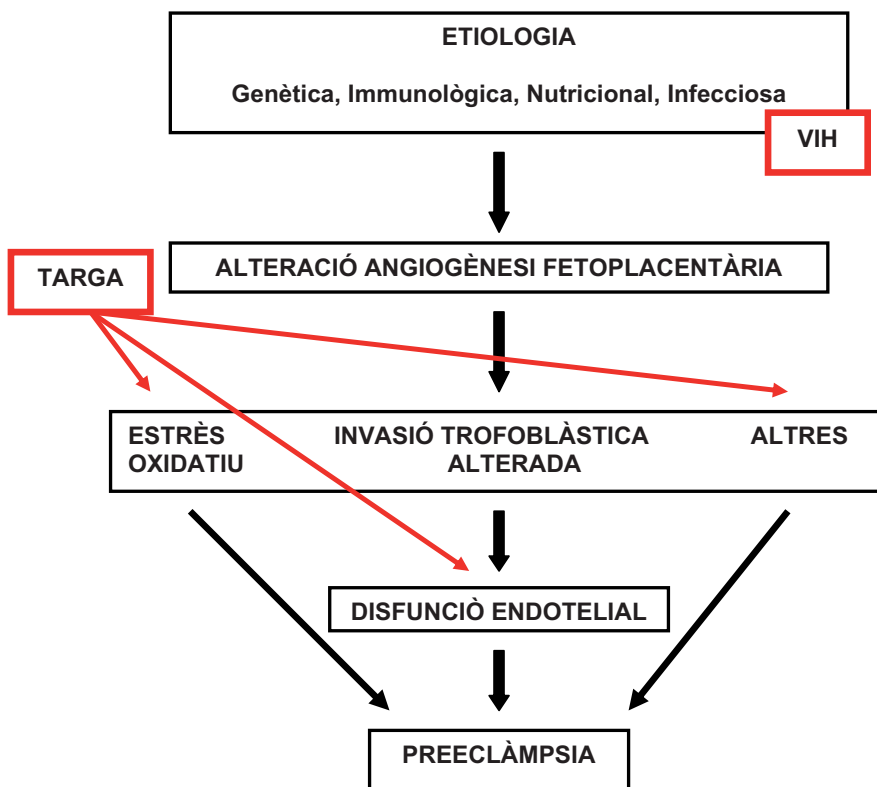
alteració en l'expressió de proteïnes relacionades amb l'angiogènesi com el "placental growth factor" (PlGF), el factor soluble fms-like tyrosine Kinase-1 (sFlt-1), factor inhibidor endogen del creixement de l'endoteli vascular (VEGF), entre d'altres (Salahuddin S, 2007; Thadhani R(2), 2004). Nivells baixos de PlGF i VEGF (factors angiogènics) i nivells alts de sFlt-1 (angiogènic) semblen predir el desenvolupament de la preeclàmpsia (Levine RJ, 2004). La resistència a la insulina també s'ha relacionat amb la preeclàmpsia (Wolf M, 2002; Seely EW, 2003). Nombrosos estudis suggereixen que les dones amb diabetis pregestacional o que desenvolupen diabetis durant la gestació són més proclius a desenvolupar preeclàmpsia (Sibai B, 2000; Schmidt MI, 2001). Algunes dades suggereixen que la resistència a la insulina i a l'angiogènesi estan íntimament relacionades i és necessària la integritat d'ambdues per tal d'assegurar el bon desenvolupament de l'endoteli (Thadhani R, 2004), per tant podem pensar que les dones amb alteracions subjacents del metabolisme de la insulina poden tenir una resposta exagerada a les alteracions dels factors angiogènics.

L'ús de fàrmacs antiretrovirals o el fet de la infecció VIH en sí mateixa representen un risc demostrat de malaltia cardiovascular i també de diabetis (Dube MP, 2000; DAD Study Group, 2007, Martínez E, 2009) cosa que també ens portaria fàcilment a una associació entre el risc de la malaltia VIH i el seu tractament i el risc de desenvolupar preeclàmpsia, atès que semblen partir d'un substrat comú com és l'alteració de l'endoteli.

Partint de l'observació subjectiva de l'increment de mals resultats obstètrics, entenent com a tal l'increment de fetus morts i de preeclàmpsies entre les dones infectades pel VIH des de la introducció del TARGA i encoratjats per la literatura existent en aquell moment, es va dissenyar l'estudi **Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy** per tal d'esbrinar quina era la incidència real d'aquests problemes, la seva evolució en el temps i la seva relació amb

els coneguts factors angiogènics associats a la preeclàmpsia i a la resistència a la insulina, relacionada no tan sols amb l'embaràs sinó també com efecte secundari del tractament antiretroviral.

Figura 6: Esquematzació de la influència de la infecció VIH i el seu tractament en el desenvolupament de la preeclàmpsia.



6. PROCEDIMENTS INVASIUS

El punt més important en el maneig de la gestant infectada pel VIH continua essent la prevenció de la transmissió vertical, tot i que no s'ha d'oblidar que aquestes embarassades, requereixen un maneig obstètric integral. S'han de poder beneficiar de totes les eines diagnòstiques o terapèutiques de control de la gestació. En aquest sentit, una de les limitacions d'aquestes dones ha estat l'ús de tècniques invasives potencialment transmissores de la infecció al fetus com ara l'amniocentesi per determinar el cariotip fetal (Rubio R, 2002), malalties metabòliques (Friedrich E, 1981) o la determinació de la maduresa pulmonar fetal (Piazze JJ, 2005).

Estudis antics, previs a la introducció del tractament antiretroviral, descriuen un risc de TV augmentat en dones sotmeses a procediments invasius. Així, l'estudi de Tess i cols (Tess BH, 1998), descriu un increment del risc d'infecció en dones sotmeses a amniocentesi de tercer trimestre (OR: 4,1 95%CI 1,2-13,5), Mandelbrot i cols (Mandelbrot L, 1996) descriuen un risc de TV del 36% en dones a qui s'ha realitzat algun tipus de procediment invasiu però inclou en aquest grup tant amniocentesi com amnioscòpies. D'altra banda, la contaminació del líquid amniòtic per sang materna no és infreqüent. En un estudi de Giorlandino i cols en què es va realitzar una segona amniocentesi a 20 dones no infectades, dues setmanes després de la primera, es va trobar contaminació per hematies i hemoglobina materna, especialment en els casos amb placenta anterior (Giorlandino C, 1996). L'increment de risc de TV i la demostrada contaminació del líquid amniòtic per sang materna desaconsellava, doncs, la realització de procediments invasius en dones infectades pel VIH.

En l'actualitat, en què les dones infectades pel VIH reben TARGA, tenen unes càrregues virals plasmàtiques baixes o indetectables i segueixen majoritàriament un bon control infectològic i obstètric, els resultats dels estudis anteriors possiblement no serien aplicables. A més, ens trobem amb una població d'edat avançada, ja que abans de la introducció dels tractaments antiretrovirals es desaconsellava l'embaràs a dones infectades pel VIH i, per

tant, les dones infectades van posposar el desig de ser mares fins a la introducció del TARGA.

Estudis posteriors van demostrar que el risc de TV no sembla incrementar-se pel fet de realitzar una amniocentesi sempre que la mare estigui sota tractament antiretroviral (Bucceri AM, 2001; Maiques V, 2003; Somigliana E, 2005). L'estudi de Somigliana i cols inclou també alguns casos de biòpsia de còrion i cordocentesi, i descriu una taxa de transmissió vertical del 3,3% IC 95% 0,6%-10,1% (2 de 60 nounats vius), però el nombre de casos inclosos no permet afirmar que l'amniocentesi no representa un risc incrementat de transmissió vertical.

Sembla, doncs, que arran dels estudis publicats la política més adequada seria aplicar un cribatge poblacional per avaluar els embarassos de risc i limitar els estudis invasius a aquelles gestants en qui se sospiti alguna anomalia (Davies G, 2003).

L'edat ha estat durant molt temps el marcador de risc emprat per tal de discriminar les dones que se sotmetien a procediments invasius, però el seu valor predictiu positiu (Nicolaidis KH, 2002) resultava molt baix per un procediment no lliure de riscos. Per això, al llarg dels anys, s'han anat desenvolupant estratègies per tal de limitar el nombre de falsos positius i, per tant, de procediments, tot i incrementant la taxa de detecció d'anomalies. Wald i cols (Wald NJ, 1988) van descriure al 1988 el test de cribatge de síndrome de Down utilitzant marcadors sèrics materns. Aquest test ha demostrat en aquests anys la seva vàlua per disminuir la prevalença de trisomies 21 entre els nascuts vius (Verloes A, 2001). Més tard es va començar a estudiar el valor d'aquests marcadors durant el primer trimestre i a partir del 1994 es va introduir l'estudi combinat de marcadors sèrics i ecogràfics (edat materna, translucència nocal, "pregnancy associated plasma protein A" (PAPP-A) i subunitat β lliure de la gonadotropina coriònica humana (β -hCG)) (Brizot ML, 1994; Spencer K, 2003). Borrell i cols (Borrell A, 2004) han publicat el resultat d'un test combinat bioquímic i ecogràfic, realitzat en dos temps. En un primer temps, entre la setmana 7 i 12 d'embaràs, es realitza la

determinació de la PAPP-A i la β -hCG, i entre la setmana 10 i 14 es realitza l'ecografia per determinar el valor de la translucència nugal i l'edat gestacional. Amb aquesta metodologia obtenen unes taxes de detecció per la trisomia 21 del 88% i del 75% per la trisomia 18 amb només un 3,3% de falsos positius.

La possibilitat d'avaluar el resultat de l'aplicació d'un test de cribratge de primer trimestre com el descrit per Borrell i cols (Borrell A, 2004) que permeti la possibilitat de realitzar pocs procediments invasius, atesa la baixa taxa de falsos positius i, per tant, de sotmetre el mínim nombre possible de dones VIH a un hipotètic increment de risc de transmissió vertical, ens va impulsar a dissenyar l'estudi **Prenatal diagnosis in human immunodeficiency virus-infected women: a new screening program for chromosomal anomalies** dins de la línia general de la memòria presentada.

7. VIA DE PART

La cesària electiva, entesa com la realitzada abans de l'inici del treball de part i amb membranes íntegres, en absència de tractament antiretrovial, redueix el risc de TV del VIH. Una metanàlisi de 15 estudis de cohorts prospectives (8.533 parelles mare-fill) (TIPHG, 1999) i l'assaig clínic del Grup Col·laboratiu Europeu (TEMDC, 1999) van concloure que la cesària electiva reduïa la taxa de TV fins i tot en dones que rebien tractament amb ZDV. En aquest darrer estudi, la reducció de la TV arribava fins a un 70% i es produïa independentment del nivell de CD4 i de l'estadi clínic de la malaltia. Aquests estudis no mostraven que la cesària tingués la mateixa eficàcia quan es realitza amb membranes amniòtiques trencades. L'increment del risc de transmissió era d'un 2% per cada hora de bossa trencada (TIPHG, 2001). És important remarcar que aquests estudis són previs a la introducció del TARGA i a la possibilitat de determinar assistencialment les càrregues virals. La baixa incidència de TV en dones tractades amb TARGA durant l'embaràs fa difícil avaluar el paper de la cesària electiva en aquest nou escenari. Una metanàlisi sobre 7 estudis realitzats tant als Estats Units com a Europa, que incloïa també mares que rebien tractament combinat, troba associació entre la TV i la càrrega viral materna i la cesària electiva tindria un paper fins i tot en dones amb càrrega viral imperceptible (Ioannidis JP, 2001). Així mateix el Grup Col·laboratiu Europeu (ECS, 2005), en un estudi que inclou 4.525 parelles mare-fill, de les que 1.147 mares prenen TARGA durant l'embaràs, mostra una taxa de transmissió del 5,06% en l'era preTARGA (1997-1998) i del 0,99% en l'era TARGA (2001-2002). La càrrega viral representa el factor principalment associat a la TV en aquest darrer període i la cesària electiva, independentment d'altres variables, també s'associa a una reducció significativa de la taxa de TV (dos terços) comparada amb el part vaginal. La cesària electiva en el subgrup de dones amb càrrega viral imperceptible i TARGA (759 parelles mare-fill) no s'associa a una reducció significativa de la TV (OR 0,64;95% CI 0.08-5,37 p=0,7).

La cesària, però, s'associa a un major nombre de complicacions que el part vaginal. Alguns estudis suggereixen que les dones infectades pel VIH presenten més complicacions que les no infectades (EHOG, 2004). La més freqüentment descrita ha estat la febre postpart, íntimament relacionada amb el nivell de CD4, tot i que aquests estudis es van realitzar en dones que no rebien tractament antiretroviral i que en una proporció important no van rebre profilaxi antibiòtica perioperatòria (Maiques V, 1999; Semprini AE, 1995; Grubert TA, 1999). D'altres estudis més recents, com el realitzat al Regne Unit (Avidan MS, 2002) en què totes les dones infectades pel VIH rebien tractament antiretroviral i profilaxi antibiòtica, no troba diferències en la incidència de morbiditat postoperatòria, si bé un estudi posterior, realitzat als Estats Units (Louis J, 2007), troba un major nombre de endometritis post part, necessitat de transfusió, sèpsia materna, pneumònia i mort materna entre les dones VIH sotmeses a una cesària que en les dones no infectades pel VIH. Sembla que les dones infectades pel VIH tenen més possibilitat de tenir una o més morbiditats postpart (OR 1.6, IC 95% 1,2-2,2,). En el mateix sentit, la cohort suïssa (Lapaire O, 2006) compara la morbiditat en dones infectades pel VIH sotmeses a una cesària electiva envers dones no infectades, tot i el biaix que les cesàries de dones infectades les realitzen cirurgians més experimentats, i troba una major nombre de complicacions menors (anèmia, pèrdua sanguínia i infeccions del tracte urinari) i també un major nombre de dies d'hospitalització. El grup d'estudi NISDI (Duarte G, 2006) associa la cesària electiva sense ruptura de membranes amniòtiques ni inici de treball de part a un major nombre de complicacions que el part vaginal en dones infectades (OR 1,16, IC95% 0,5-2,7) i més quan la cesària es realitza en curs de part (OR 2,96, IC 95% 1,3-6,7).

En els darrers anys, totes les guies nacionals sobre el maneig de l'embaràs en la dona infectada pel VIH del nostre entorn contemplen el part vaginal com una opció vàlida en certes circumstancies. Les guies espanyoles, des de l'any 2001 proposen la possibilitat de part vaginal a aquelles dones sota tractament TARGA i amb una càrrega viral per sota de les

1.000 còpies/mL (Iribarren JA, 2001; SPNS, 2008). L'“American College of Obstetricians and Gynecologists” (Rowland BL, 2001) recomana també un part vaginal en circumstàncies similars. Tanmateix, les recomanacions franceses (Delfraissy J, 2005) estableixen un punt de tall de <400 còpies/mL i les britàniques (British HIV Association, 2005) de només <50 còpies/mL.

El maneig intrapart d'una dona infectada pel VIH, presenta certes limitacions respecte a la dona no infectada. Es recomana no realitzar micropreses de calota fetal per descartar pèrdua del benestar fetal, ni monitoratge intern del fetus, pel risc que aquestes actuacions comporten en l'increment de TV (Mandelbrot L, 1996). Quant a l'acceleració de la finalització de la gestació i del part, es recomana no realitzar amniorrèxi artificial (Mandelbrot L, 1996; Shapiro DE, 1999; TEMDC, 1999). Tanmateix, també s'ha d'evitar la instrumentació del part, atès que les laceracions que es poden produir en l'ús de les ventoses o fòrceps, també poden teòricament incrementar el risc de TV, ja que, tot i que la càrrega viral plasmàtica resulti indetectable és possible la transmissió del virus. El compartiment genital pot comportar-se com un reservori del virus, amb resposta als tractaments antiretrovirals i perfils de resistències diferents (Kovacs A, 2001; Si-Mohamed A, 2000).

L'administració de ZDV intrapart, com a part del protocol ACTG 076, continua estant recomanat en el nostre entorn. Tot i que la seva utilitat es va posar en dubte en dones tractades amb tractament TARGA i càrregues virals per sota de 50 còpies/ml (Warszawski J, 2005), publicacions recents continuen avalant el seu ús (Warszawski J, 2008)

Sembla doncs, que en la era del TARGA, tot i que la cesària electiva és un procediment relativament segur i cost-efectiu (Jamieson DJ, 2007)), no està lliure de complicacions i, per tant, podríem plantejar-nos si cal practicar-la de forma sistemàtica o bé oferir-la en aquells casos en què els factors principalment implicats en la transmissió vertical es mostressin desfavorables (la càrrega viral i el tractament antiretroviral). En aquest escenari i d'acord amb el marc general de la tesi que es presenta, es feia necessari avaluar l'acceptació per

part de la gestant d'una política més permissiva del part vaginal així com de les possibilitats reals de dur-lo a terme, ateses les consideracions a tenir en compte a l'hora de conduir un part per via vaginal en la dona infectada pel VIH, i per això es va dissenyar l'estudi **Current guidelines on management of HIV-infected pregnant women: impact on mode of delivery**

En el moment actual, en el nostre entorn, en què la dona infectada pel VIH compta amb un lliure accés a tractaments antiretrovirals, un assessorament adequat previ a la gestació, un control gestacional òptim i amb l'accés a la cesària electiva per disminuir el risc de transmissió mare-fill, el problema de la TV ha passat a un segon terme ja que les taxes de transmissió se situen entre l'1 i 2%, però han sorgit nous problemes a resoldre al voltant del procés reproductiu de la dona embarassada que fins ara no existien, probablement perquè l'evolució de la malaltia no ho havia permès. Alguns d'aquests nous aspectes són els que s'han tractat en aquest document.



HIPÒTESI

Els tractaments antiretrovirals actuals són altament efectius en aturar la progressió de la infecció VIH a la sida. No estan lliures, però, d'efectes secundaris tant a curt com a llarg termini, tant importants com la lipodistròfia o la malaltia cardiovascular, les alteracions del perfil dels lípids o d'altres efectes que segur que queden encara per descriure a causa dels pocs anys d'evolució del tractament antiretroviral. En general, les persones infectades pel VIH tenen una supervivència menor, més risc d'infeccions oportunistes i tumors, tenen limitacions per ser receptors d'òrgans i tenen alterada la seva funció reproductiva.

Les persones infectades tenen dificultats per trobar parelles amb qui desenvolupar el seu projecte familiar, limitacions a l'hora de la seva sexualitat que obliguen a l'ús de preservatiu i limiten, per tant, la capacitat de tenir fills. En el cas de tenir-los, el risc d'infecció del nadó ha esdevingut un autèntic repte per als professionals de la sanitat dedicats a l'atenció dels pacients afectes de la infecció VIH.

En els darrers anys, el control relatiu de la malaltia, la no-evolució a la mort i la possibilitat d'un ple desenvolupament personal ha fet sorgir nous problemes associats a la infecció, a l'estil de vida i al propi tractament.

Partim de la hipòtesi que **la dona infectada pel virus de la immunodeficiència humana adquirida té unes característiques particulars, condicionades tant pel fet d'estar infectada pel VIH com pel tractament de la malaltia, que repercuteixen en el maneig del seu procés reproductiu.** Per conèixer en cada esgrà del procés reproductiu quins són els trets diferencials de la dona infectada pel VIH hem creat les següents hipòtesis:

Abans de la concepció:

La resposta immunològica que es produeix en els individus exposats no infectats al virus de la immunodeficiència adquirida, respon al nivell exposat de virus.

Existeixen paràmetres capaços de predir la reducció de fertilitat de la dona infectada pel VIH.

Hipòtesi

En el moment de la concepció:

La pacient infectada pel VIH té una fertilitat reduïda inherent a la pròpia malaltia o al tractament.

La dotació de DNAm dels oòcits de la dona infèril infectada pel VIH, que rep tractament altament efectiu, és menor que la de la dona no infectada.

En el maneig de l'embaràs:

La dona infectada pel VIH pot accedir a tècniques de diagnòstic d'aneuploidies en un marc concret d'actuació sense que això impliqui un risc important de iatrogènia.

La dona infectada tractada amb tractaments antirretrovirals de gran activitat té un risc superior a la població de dones no infectades de presentar complicacions obstètriques severes tals com la mort fetal intrauterina o la preeclàmpsia.

En el moment del part:

La dona infectada pel VIH pot optar per un part vaginal quan rep TARGA i té una resposta virològica excel·lent de forma sostinguda.



OBJECTIUS

1.- Analitzar els paràmetres immunològics i genètics implicats en la protecció del contagi del virus de la immunodeficiència humana adquirida per via sexual en parelles heterosexuals serodiscordants pel VIH.

2.- Relacionar els paràmetres immunològics implicats en la protecció del contagi del VIH per via heterosexual amb la càrrega viral plasmàtica del membre infectat de la parella.

Per tal de complir els objectius 1 i 2 es va dissenyar l'estudi 1, **Immunological Profile of Heterosexual Highly HIV Exposed Uninfected Individuals: Predominant Role of CD4 and CD8 T-Cell Activation. JID 2007**

3.- Avaluar els paràmetres determinants per predir la fertilitat de les parelles no estèrils que busquen gestació, en que la dona està infectada pel virus de la immunodeficiència humana adquirida

Per tal de complir aquest objectiu es va plantejar l'estudi 2, **Fertility assessment in non-infertile HIV infected women and their partners. RBM online 2007**

4.- Avaluar si les dones infectades pel virus de la immunodeficiència humana adquirida tenen les mateixes taxes d'embaràs quan se'ls practica una fecundació *in vitro*, que les dones no infectades i quins factors hi estan implicats.

5.- Avaluar si les taxes d'embaràs per fecundació *in vitro* varien quan s'aplica una donació d'òcits.

Per tal de complir els objectius 4 i 5 es va dissenyar l'estudi 3, **Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART. AIDS 2006**

Objectius

6.- Avaluar si existeix depleció del DNAmT en els oòcits de les dones estèrils, infectades pel virus de la immunodeficiència humana adquirida, sotmeses a tractament antiretroviral altament efectiu.

Per tal de complir aquest objectiu es va dissenyar l'estudi 4, **Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral treated infertile women. Antiviral Therapy 2008**

8.- Avaluar la incidència i els factors de riscos de desenvolupament de preeclàmpsia i mort fetal en la població general.

9.- Avaluar la incidència i els factors de riscos de desenvolupament de preeclàmpsia i mort fetal en la població de dones infectades pel VIH.

10.- Avaluar si existeix relació entre l'aparició de preeclàmpsia i mort fetal en les dones infectades pel virus de la immunodeficiència humana adquirida i el tractament antiretroviral.

11.- Avaluar el paper de la resistència a la insulina i dels marcadors d'inflamació endotelial (selectines P i E) en les dones infectades pel virus de la immunodeficiència humana adquirida.

Per tal de complir els objectius 8,9,10 i 11 es va dissenyar l'estudi 5, **Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS 2006**

12.- Descriure els resultats obtinguts aplicant un cribratge combinat bioquímic i ecogràfic d'anomalies cromosòmiques, de primer trimestre, en dones infectades pel virus de la immunodeficiència humana adquirida.

13.- Descriure els resultats perinatals de l'aplicació del programa de cribratge combinat de primer trimestre.

Per tal de complir els objectius 12 i 13 es va dissenyar l'estudi 6, **Prenatal diagnosis in human immunodeficiency virus-infected women: A new screening program for chromosomal anomalies. AJOG 2006**

14.- Avaluar l'acceptabilitat, les dificultats i els resultats de l'aplicació d'una política que permeti el part vaginal en casos seleccionats de dones infectades pel VIH.

Per tal de complir l'objectiu 14 es va dissenyar l'estudi 7, **Current guidelines on management of HIV-infected pregnant women: Impact on mode of delivery. EJOGRB 2007**

PUBLICACIONES

A red L-shaped graphic element consisting of two parallel lines. The inner line is shorter than the outer line, creating a rectangular frame. The word "PUBLICACIONES" is centered within this frame.

Publicació 1: **Immunological Profile of Heterosexual Highly HIV Exposed Uninfected Individuals: Predominant Role of CD4 and CD8 T-Cell Activation.**

Anna Suy, Pedro Castro, Meritxell Nomdedeu, Felipe García, Anna López, Emilio Fumero, Teresa Gallart, Lucia Lopalco, Oriol Coll, Jose M Gatell, and Montserrat Plana. *The Journal of Infectious Diseases* 2007; 196:1191–201. **(IF:5,36)**

Immunological Profile of Heterosexual Highly HIV-Exposed Uninfected Individuals: Predominant Role of CD4 and CD8 T-Cell Activation

Anna Suy,¹ Pedro Castro,² Meritxell Nomdedeu,² Felipe García,² Anna López,³ Emilio Fumero,² Teresa Gallart,³ Lucía Lopalco,⁴ Oriol Coll,¹ José M Gatell,² and Montserrat Plana³

¹Gynecology Department, ²Infectious Diseases Unit, ³Immunology and Retrovirology and Viral Immunopathology Laboratories, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer, University of Barcelona, Spain; ⁴Immunobiology of HIV Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy

Background. Altered T cell subset distribution patterns in uninfected individual highly exposed to human immunodeficiency virus (HIV) have been explained either as a consequence of viral exposure or as a surrogate marker of low susceptibility to infection.

Methods. Multiple genetic and immunological parameters were studied prospectively in 21 HIV-serodiscordant heterosexual couples.

Results. We found changes of both CD4⁺ and CD8⁺ T cells in highly HIV-exposed, uninfected individuals, with a lower level of naïve and CD28⁺ T cells and higher levels of HLA-DR⁺ T cells and CD4⁺ T cells expressing CCR5 and memory CD4⁺ T cells than in control subjects. The changes in memory and activated T cells observed in highly HIV-exposed, uninfected partners were directly correlated with plasma viral load (PVL) of the HIV-1-infected partners, whereas changes in naïve and CD4⁺ CD28⁺ T cells observed in highly HIV-exposed uninfected partners were inversely correlated with PVL of the HIV-1-infected partners. We were only able to detect HIV-1-specific T-cell responses in a few highly HIV-exposed uninfected partners.

Conclusions. These data suggest that the peripheral immune cells of highly exposed, uninfected individuals responded according to the level of HIV exposure from the partner, even though evidence of specific HIV stimulation is rarely seen.

It has been described that some individuals remain HIV uninfected despite multiple exposures to the virus [1–4]. There is no clear explanation for this low susceptibility to infection and a number of probable “protective” factors have been reported. First, virus characteristics or levels of plasma viral load (PVL) have been implicated in resistance to infection [5]. Second, variants of host genes have been suggested as important determinants of susceptibility to HIV-1 infection [6–9]. Finally, mucosal and systemic HIV-1-specific cellular and humoral responses could play a determining role in protection against HIV-1 infection [4, 10–16].

Despite these tentative hypotheses regarding low susceptibility to infection, variants of host genes have been found infrequently in cohorts of highly exposed, seronegative individuals [6, 7]. Moreover, some authors reported that most of these individuals lack HIV-1-specific immune responses [17] and that detection of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) may signify exposure to the virus rather than protection

Potential conflicts of interest: none reported.

Financial support: Ministerio de Educación y Ciencia (grant SAF 01/2591 to J.M.G., F.G., and T.G., grant SAF 05/0556 to J.M.G., F.G., T.G., and M.N., and grant FIT 090100-2005-9 to F.G.); Instituto Superiore di Sanità (ISS 40F45 and 40F46 to L.L.); Fondo de Investigaciones Sanitarias del Ministerio de Sanidad y Consumo (grant FIS 04/503 to M.P., grant FIS PI050058 to F.G. and M.P., and grant FIS 61259 to T.G.); Fund for the Improvement of Postsecondary Education (grant 36536/05 to J.M.G., F.G., T.G., M.P., P.C., A.L., and E.F.), which is a nonprofit foundation including the Spanish Ministry of Health, Abbott Laboratories, Boehringer Ingelheim, Bristol Myers Squibb, GlaxoSmithKline, Merck Sharp, and Dohme and Roche); Red Temática Cooperativa de Grupos de Investigación en Sida del Fondo de Investigación Sanitaria (grant ISCIII-RETIC RD 06/006 to J.M.G., F.G., T.G., M.P., P.C., A.L., and E.F.); Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (support to F.G.); Fundació Privada Clínic per la Recerca Biomèdica in collaboration with the Spanish Health Department (contract FIS 03/00072 to M.P.).

Received 5 January 2007; accepted 19 April 2007; electronically published 17 September 2007.

Reprints or correspondence: Dr. Felipe García, Infectious Diseases Unit, Hospital Clínic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain (fgarcia@clinic.ub.es)

The Journal of Infectious Diseases 2007;196:1191–201

© 2007 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.
0022-1899/2007/19608-0012\$15.00
DOI: 10.1086/521193

from infection [18]. Other factors may influence this low susceptibility to infection.

Some authors have reported altered T cell subset distribution patterns in highly HIV-exposed, uninfected individuals, and these changes have been explained as a consequence of a broad spectrum of immunogenic challenges during viral exposure [2, 15, 19–22]. Conversely, others have hypothesized that the changes in immunological parameters observed in highly exposed, HIV-uninfected individuals would be a constitutive characteristic and a surrogate marker of genetic or immunological advantage implying low susceptibility to infection [23–25].

We analyzed multiple genetic and immunological parameters in 21 heterosexual couples with discordant HIV serostatuses who had a history of penetrative sexual intercourse without condoms (and no other known risk factors). Thus, we could correlate the changes observed in the immune system with the PVL of the HIV-1-infected partner.

METHODS

Study participants. Twenty-one serodiscordant heterosexual couples were enrolled in the study. The couples were recruited in a single center (Hospital Clínic de Barcelona, Spain); 12 were recruited when 1 of the partners was diagnosed with HIV infection, and 9 were HIV-1-serodiscordant couples seen in the healthcare center. The 21 heterosexual couples studied comprised 16 highly HIV-exposed, uninfected males and 5 highly HIV-exposed, uninfected females (table 1). Inclusion criteria were a history of ongoing unprotected sexual intercourse for at least 12 months; 5 episodes of unprotected sexual intercourse in the last 3 months, with at least 1 episode in the 4 weeks prior to study entry; and 1 HIV-1-infected patient per couple with a PVL >3000 copies/mL. Homosexual couples and individuals with multiple partners were excluded. Twenty-two HIV-1-uninfected, low-risk individuals matched for age and gender were recruited as a control group. Serodiscordant couples were instructed to use condoms during sexual intercourse after inclusion in the study (day 0). Immunological and microbiological tests were repeated 3 months later (day 90) in 10 couples who reported condom use during all episodes of sexual intercourse during this period.

All immunological and virological analysis was performed in a blinded fashion. The study and study procedures were explained to all patients in detail, and all gave written informed consent. The study was approved by our institutional ethical review board.

Initial evaluation, sample collection, and processing. A case report form with epidemiological data and information on sexually transmitted infections (STI), sexual history (including number of partners and type of sexual intercourse), and antiretroviral medication history was used. All women had gynecological and cervicovaginal cytological examinations performed.

The following blood analyses were performed: assays for IgG anti-hepatitis C virus, HBs antigen, and HBs antibodies; venereal disease research laboratory test; fluorescent treponemal antibody absorption test; and PVL. Vaginal cultures (women) and urethral swab cultures (men) were performed for the following: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*, and *Mycoplasma hominis*. All tests were repeated at the 3-month follow-up.

PVL. Plasma HIV-1 RNA levels were determined using the Amplicor HIV-1 Monitor Ultra Sensitive Specimen Preparation Protocol Ultra Direct Assay (Roche Molecular Systems) with a quantification limit of 20 copies/mL.

Genotypic analysis of chemokine receptors. Genomic DNA was isolated from either PBMCs or whole blood (Qiagen kits; Qiagen). Polymerase chain reaction (PCR) amplification of CCR5 sequences was performed using genomic DNA extracted from cryopreserved cells. The $\Delta 32$ deletion in the CCR5 gene was detected by amplifying part of the coding region, with primers and reaction conditions described elsewhere [26].

Lymphocyte subsets and lymphoproliferative response to pokeweed mitogens and HIV-1-specific antigens. Subpopulations of CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cells were determined in blood or cervicovaginal lavage cells by 3-color flow cytometry, as described elsewhere [27]. Lymphoproliferative responses to pokeweed mitogens and HIV-1-specific antigens were determined, as described elsewhere [27]. Results were expressed as mean counts per minute (cpm). The stimulation index (SI) was calculated for each sample as counts per minute for cells with stimulus divided by counts per minute for cells without stimulus. Positive polyclonal and antigen-specific responses were defined as >3000 counts per min and SI >15 and >3 , respectively.

Intracellular cytokine staining. The presence of HIV-1-specific CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes in blood was analyzed by measuring the intracellular interferon (IFN)- γ production by flow cytometry, as described previously [28]. Mononuclear cells were stimulated with a pool of overlapping peptides from HIV-1 subtype B consensus Gag (15-mer) obtained from National Institutes of Health AIDS Research and Reference Reagents Program (cat no. 8117) for 6 h. Results were considered to be positive if intracellular IFN- γ production was detected in $\geq 0.02\%$ of cells, after subtracting background. The cutoff for positive IFN- γ production determined by intracellular staining was calculated by figuring the median of the percentage of CD4⁺ or CD8⁺ CD69⁺ IFN- γ ⁺ obtained in nonstimulated PBMCs, which were cultured with medium alone for 6 h, and after subtracting the background, defined by the nonspecific binding using the different Ig isotypes conjugated with PerCP, PE, or FITC.

Specific HIV-1 CTL response. An enzyme-linked immunosorbent spot (ELISPOT) assay was used to measure HIV epitope-specific CD8⁺ T cell IFN- γ release from cryopreserved PBMC samples, as described elsewhere [29]. A mean of 16

(range, 3–27) different HLA class I–restricted synthetic peptides from *gag*, *pol*, *env*, and *nef* proteins were tested in each individual according to HLA genotype. The specific peptides used in the assays were provided by Sigma-Genosys and are listed in table 2. The background of the ELISPOT assays analyzed was obtained by incubating PBMC (10^5 cells per well in triplicate) alone with medium (RPMI 1640 plus 10% fetal calf serum [FCS]), without adding any peptide. Usually, in these conditions fewer than 10 spots per well were obtained. After subtracting background counts obtained with PBMCs with medium alone, results were normalized to spot-forming cells (sfc) per 10^6 PBMCs. A response was considered to be specifically positive if there were >40 sfc/ 10^6 PBMCs or 3 times the background value.

Measurements of HIV-1–specific antibodies in serum and cervicovaginal lavage. The presence of gp41-specific IgA in plasma samples was evaluated by ELISA, as previously described [30, 31]. Each assay was correlated with a negative control (a pool of cervicovaginal lavage fluid specimens or serum from 10 unexposed, healthy control subjects) and with a positive control subject (a pool of cervicovaginal lavage fluid specimens or serum from 5 exposed, uninfected persons with previous positive results for IgA to gp41). Each sample was defined as positive and titered when the optical density (OD) value of a

specific dilution of the sample showed an OD value similar to that of a pool of negative control subjects.

Statistical analysis. Quantitative data were compared between day 0 and 90 with a Student *t* test for paired samples in variables with normal distribution and similar variances, or with the Wilcoxon matched-pairs test for variables without normal distribution. To compare variables among highly HIV-exposed, uninfected individuals, HIV-infected persons, and low-risk seronegative individuals, we used analysis of variance for variables with normal distribution and similar variances, and the Mann-Whitney *U* test for variables with nonnormal distribution. Spearman rank-order correlations were performed on quantitative data. Each of the pairwise comparisons used a 2-sided significance level of $P = .05$, adjusted for the number of comparisons.

RESULTS

Clinical and epidemiological characteristics of heterosexual couples. Highly HIV-exposed, uninfected partners had a median age of 33 years (range, 21–55 years), and 16 (76%) were male. The median period of unprotected sex with the partner was 36 months (range, 12–180 months). The median number of episodes of unprotected sexual intercourse in the 3 months prior to day 0 (day of first scheduled visit and blood extraction)

Table 1. Clinical and epidemiological characteristics of heterosexual couples in the study at day 0.

Couple	Highly HIV-exposed, uninfected partner				HIV-1–infected partner			
	32-bp deletion in the CCR5 gene	Sex	Unprotected sexual intercourse		32-bp deletion in the CCR5 gene	CD4 ⁺ cell count, cells $\times 10^6/L$	PVL, copies/mL	Antiretroviral therapy received
			Period, months	Episodes in the past 3 mos, no.				
1	$\Delta 32/WT$	M	12	36	$\Delta 32/WT$	356	135000	No
2	$\Delta 32/WT$	M	48	36	WT/WT	431	3640	No
3	WT/WT	M	12	45	WT/WT	424	14700	No
4	WT/WT	F	16	45	WT/WT	138	230000	No
5	WT/WT	F	99	5	WT/WT	557	106000	No
6	$\Delta 32/WT$	F	12	120	WT/WT	231	117000	No
7	WT/WT	M	180	7	WT/WT	736	3250	Yes
8	WT/WT	M	24	6	$\Delta 32/WT$	20	376000	No
9	WT/WT	M	72	8	WT/WT	1018	10700	No
10	WT/WT	M	36	52	WT/WT	535	3180	Yes
11	WT/WT	M	36	15	WT/WT	596	16100	No
12	WT/WT	M	120	10	$\Delta 32/WT$	139	576000	No
13	$\Delta 32/WT$	M	36	10	WT/WT	354	73800	No
14	$\Delta 32/WT$	M	60	6	WT/WT	130	528000	No
15	WT/WT	M	18	11	WT/WT	303	4990	Yes
16	WT/WT	M	24	14	WT/WT	902	35200	No
17	WT/WT	F	12	5	WT/WT	187	5230	No
18	WT/WT	M	96	6	WT/WT	406	41700	No
19	WT/WT	M	25	15	WT/WT	359	4310	No
20	WT/WT	M	32	17	WT/WT	474	3500	Yes
21	WT/WT	F	15	8	WT/WT	113	24700	No

NOTE. BP, base pair; PVL, plasma viral load; WT, wild type.

Table 2. Specific peptides used in the ELISPOT assays to assess specific HIV-1 cytotoxic T lymphocyte responses.

Peptide number	Sequence	Protein	HLA
0	WIYHTQGYF	NEF 111–119	A1
1	GSEELRSLY	P17 71–79	A1
2	ISERILSTY	RT 55–63	A1
3	TLYCVHQRI	P17 84–92	A11
4	ACQGVGGPGHK	P24 217–227	A11
5	AIFQSSMTK	RT 313–321	A11
6	QIYQEPFKNLKTG	RT 495–507	A11
7	QVPLRPMTYK	NEF 71–80	A11, A3
8	AVDLSHFLK	NEF 82–90	A11
9	FNCGGEFFY	GP120 380–388	A29
10	NSSKVSQNY	P17 124–132	B35
11	PIPIVGDYI	P24 122–130	B35
12	TVLDVGDAY	RT 262–270	B35
13	VPLDEDFRKY	RT 273–282	B35
14	SPAIFQSSM	RT 311–319	B35
15	HPDIVIYQY	RT 330–338	B35
16	VPVWKEATTL	GP120 41–50	B35
17	TAVPWNASW	GP4196–104	B35
18	VPLRPMTY	NEF 72–79	B35
19	EELROHLLRW	RT 358–367	B44
20	TWETWWTEYW	RT 552–561	B44
21	AAENLWVTYYY	GP120 29–39	B44
22	GGKKYKYLK	P17 24–32	B8
23	ELRSLYNTV	P17 74–82	B8
24	GEYKRWII	P24 127–135	B8
25	DCKTILKAL	P24 197–205	B8
26	GPKVKQWPL	RT 173–181	B8
27	WPTVRERM	NEF 13–20	B8
28	FLKEKGGL	NEF 90–97	B8
29	SLYNTVATL	P17 77–85	A2
30	VYQYMDDL	RT 334–342	A2
31	ILKEPVHGV	RT 464–472	A2
32	GHQAAMQMLKE	P24 61–70	A2
33	HAGPIAPGQMRPRG	P24 87–101	A2
34	GNFLQSRPEPTAPPF	P15 69–83	A2
35	KEGHQMKDCTERQANF	P15 41–56	A2
36	VLDVGDAYFSV	RT 263–273	A2
37	VLEWRFD SRL	NEF 178–187	A2
38	RYPLTFGW CYK	NEF 132–142	B18
39	NANPDCKTI	P24 193–201	B51
40	TAFTIPSI	RT 283–290	B51
41	RAIEAQQL	GP41 47–55	B51
43	ISPRTLNAW	P24 15–23	B57
44	KAFSPEVIPMF	P24 30–40	B57
45	TSTLQEQIGW	P24 108–117	B57, B58
46	QASQEVKNW	P24 176–184	B57
47	PIVLPEKDSW	RT 398–407	B57
48	KITESIVIW	RT 529–538	B57
49	GPGVRYPLTFGW CY	NEF 128–141	B57
50	HTQGYFPD WQ	NEF114–123	B57
51	KYKLKHIVW	P17 28–36	A24

(continued)

Table 2. (Continued.)

Peptide number	Sequence	Protein	HLA
52	YLKQQLL	GP41 76–83	A24
53	YFPDWQNYTPGPGIRYPLTFGWCYK	NEF 118–142	A24
54	KRWIILGNK	P24 131–139	B27
55	RRQDILDWLI	NEF 103–112	B27
56	KIRLRPGGKK	P17 18–27	B27, A3
57	RRWIQLGLQK	P24 131–140	B27
58	GRRRGWEALK	GP41 276–284	B27
59	SPRTLNAWV	P24 16–24	B7
60	TPQDLNTM	P24 48–55	B7
61	GPGHKARVL	P24 223–231	B7
62	SPAIFQSSMT	RT 311–319	B7
63	YLAWVPAHK	RT 687–695	B7
64	RPNNNTRKSI	GP120 302–311	B7
65	IPRRIRQGL	GP41 333–341	B7
66	FPVTPQVPLR	NEF 66–75	B7
67	RPMTYKAAL	NEF 75–83	B7
68	HSQRRQDILDWVIY	NEF 100–113	B7
69	TPGPGVRYPL	NEF 126–135	B7
70	SFNCGGEFF	GP120 379–387	B15
71	ALVICTEMEK	RT 188–198	A3
72	AIFQSSMTK	RT 313–333	A3, A33
73	RLRDLLLIIVTR	GP41 786–778	A3
74	AFHHVAREK	NEF 190–198	A3
75	VLSIVNRVRQGYSPFSQTH	GP41 701–720	A32
76	DTGHSNOVSQNY	P17 121–132	A33
77	EVIPMFSAL	P24 A67–175	A26
78	ETFYVDGAANR	RT 593–603	A26
79	DLNTMLNTV	P24 183–191	B14
80	DRFYKTLRA	P24 298–306	B14
81	ALQDSGLEVVTDSQYALGI	RT 648–672	B14
82	ERYLKDQQL	GP41 591–599	B14

was 11 (range, 5–120). Vaginal sex was the most common, and oral sex was practiced in 7 out of 21 couples as often as vaginal sex. Anal sex was reported by 1 couple. No STIs were found in any of the partners at day 0 or 90 (at 3-month follow-up). No highly HIV-exposed, uninfected or HIV-infected individuals were HCV or HBV infected. Day 0 and nadir of CD4⁺ T cell counts in the HIV-1-infected partner were a median of 358 cells × 10⁶/L (range, 19–1017 cells × 10⁶/L) and a median of 267 cells × 10⁶/L (range, 12–598 cells × 10⁶/L), respectively. The median day 0 PVL and peak PVL in the HIV-1-infected partners were 24,700 copies/mL (range, 3180–576,000 copies/mL) and a median of 111,500 copies/mL (range, 4500 to >1,000,000 copies/mL), respectively. Table 1 summarizes the clinical and epidemiological characteristics of heterosexual couples. Heterozygous Δ32 deletion in the CCR5 gene was observed in 5 highly HIV-exposed, uninfected and 3 HIV-1-infected individuals (table 1). Plasma HIV-1 RNA levels were repeatedly negative in highly HIV-exposed, uninfected individuals.

At day 90, a total of 10 couples (couples 1, 2, 3, 5, 9, 11, 12, 13, 14, and 20) reported regular use of condoms during their sexual intercourse after day 0. Immunological and microbiological tests were repeated in this group; the rest of the couples were excluded, because they reported that the continued having unprotected sexual intercourse. Nine of 10 HIV-1-infected partners were receiving antiretroviral therapy for at least 3 months (except the patient in couple 2), and 8 of 10 patients had an undetectable PVL level at day 90 (except the patient in couple 2 and the patient in couple 5, who had 2240 and 785 copies/mL, respectively).

Lymphocyte subsets and lymphoproliferative responses to pokeweed mitogens and recall antigens. Table 3 shows the T lymphocyte subsets and lymphoproliferative responses to pokeweed mitogens and recall antigens in highly HIV-exposed, uninfected individuals; HIV-1-infected individuals; and HIV-unexposed, uninfected individuals at day 0. All CD4⁺ T lymphocyte subsets were significantly different when highly

Table 3. Lymphocyte subsets and lymphoproliferative responses to pokeweed mitogens and HIV-1-specific antigens in the study subjects at day 0.

Lymphocyte or antigen/mitogen	Highly HIV-exposed, uninfected individuals (n = 21)	HIV-unexposed, uninfected individuals (n = 22)	P ^a	HIV-infected partner (n = 21)	P ^b
T cell subsets					
CD3 ⁺	60 (3.2)	72 (1.9)	.006	67 (3.6)	.30
CD4 ⁺	37 (2.2)	43 (1.7)	.17	21 (2.4)	<.001
CD8 ⁺	21 (1.6)	26 (1.2)	.08	41 (2.9)	<.001
CD4:CD8 ratio	1.90 (0.19)	1.74 (0.16)	1	0.56 (0.08)	<.001
CD4⁺ T lymphocytes					
CD28 ⁺	90 (2.4)	98 (0.5)	.003	87 (2.4)	.95
CD28 ⁻ CD57 ⁺	2.8 (0.7)	1.2 (0.4)	.009	6.6 (1.9)	.09
HLA DR ⁺	10.9 (2.2)	3.6 (0.3)	.001	19.9 (3.1)	.02
CD38 ⁺	33 (2.4)	54 (2.5)	<.001	58 (4.0)	<.001
CD38 ⁺ DR ⁺	5.8 (6)	1.3 (0.5)	<.001	13.8 (11)	<.001
CD45RA ⁺ RO ⁺	7.4 (6.6)	3.2 (4.9)	<.001	14.8 (11.3)	.01
CD45RA ⁺ RO ⁻	21 (2.4)	36 (2.9)	.005	26 (3.9)	.73
CD62L ⁺ CD45RA ⁺	23 (2.9)	37 (2.5)	.005	32 (3.7)	.15
CD45RA ⁻ RO ⁺	65 (4.2)	55 (2.9)	.04	56 (3.7)	.11
CD8⁺ T lymphocytes					
CD28 ⁺	51 (5.4)	67 (3.2)	.02	48 (3.4)	.46
CD28 ⁻ CD57 ⁺	33 (4.5)	20 (2.8)	.02	36 (3.1)	.56
HLA DR ⁺	12 (2.3)	7 (1.1)	.08	34.4 (3.1)	<.001
CD38 ⁺	34 (2.6)	44 (2.4)	<.001	65 (3.6)	<.001
CD38 ⁺ DR ⁺	5.4 (0.9)	3.6 (0.6)	.14	28.6 (2.9)	<.001
CD45RA ⁺ RO ⁺	9.3 (1.2)	4.4 (0.9)	.02	18.4 (1.6)	<.001
CD45RA ⁺ RO ⁻	55 (3.0)	65 (2.7)	.03	42 (2.8)	.005
CD62L ⁺ CD45RA ⁺	38 (3.0)	48 (3.7)	.05	34 (2.7)	.16
CD45RA ⁻ RO ⁺	32 (2.2)	28 (2.5)	.78	38 (2.7)	.22
CCR5 expression					
CCR5 CD4 ⁺ T cells	12 (2.0)	4 (0.5)	.002	13 (1.9)	.69
CCR5 CD8 ⁺ T cells	16 (2.1)	13 (2.2)	.16	19 (2.3)	.39
CXCR4 expression					
CXCR4 CD4 ⁺ T cells	31 (3.9)	25 (4.6)	.21	37 (4.9)	.37
CXCR4 CD8 ⁺ T cells	27 (3.9)	19 (3.3)	.31	24 (3.5)	.81
Lymphoproliferative responses, SI					
Pokeweed	13 (2.2)	27 (4.4)	.01	12 (3.3)	.21
Tetanus toxoid	2.4 (0.7)	3.3 (0.6)	.22	2.2 (0.7)	.10
Cytomegalovirus	2.3 (0.5)	2.7 (0.8)	.82	1.9 (0.3)	.62
Gp160 antigen HIV	1.4 (0.3)	1.2 (0.2)	.88	1.8 (0.5)	.89
P24 antigen HIV	1.9 (0.4)	1.7 (0.2)	.36	2.2 (0.6)	.42

NOTE. Values are mean % of cells, unless otherwise indicated. Values in parentheses are SEs. Day 0 was defined as the day of the first scheduled visit and blood sample. SI, stimulation index.

^a Comparison between highly HIV-exposed, uninfected individuals and HIV-unexposed, uninfected individuals. All P values are adjusted for multiple comparisons; values of <.05 are in bold.

^b Comparison between highly HIV-exposed, uninfected individuals and HIV-infected patients.

HIV-exposed, uninfected and HIV-unexposed, uninfected groups were compared. Highly HIV-exposed, uninfected individuals had significantly lower levels of CD28⁺, CD38⁺, CD62L⁺CD45RA⁺ (naive), CD45RA⁺RO⁻ (naive) T cells, and

higher levels of CD45RA⁺RO⁺, CD45RA⁻RO⁺ (memory), HLA-DR⁺, CD28⁻CD57⁺, and CD38⁺DR⁺ T cells than did HIV-unexposed, uninfected individuals. Moreover, highly HIV-exposed, uninfected individuals had a higher CCR5 expression in CD4⁺

T cells than did HIV-unexposed, uninfected individuals. When the absolute number of these subsets was analyzed, the results were similar (table 4).

Most of the CD8⁺ T cell subsets also differed between highly HIV-exposed, uninfected and HIV-unexposed, uninfected individuals (table 3). Highly HIV-exposed, uninfected individuals had significantly lower levels of CD28⁺, CD38⁺, CD62L⁺CD45RA⁺ (naive), and CD45RA⁺RO⁻ (naive) T cells than did HIV-unexposed uninfected individuals. There were no differences in levels of CD45RA⁻RO⁺(memory), CD38⁺DR⁺ T cells and CCR5 and CXCR4 expression in CD8⁺ T cells between the 2

groups. Highly HIV-exposed, uninfected individuals had a higher level of CD28⁻CD57⁺ and CD45RA⁺RO⁺ T lymphocytes and a trend to have a higher expression of HLA-DR⁺ on CD8⁺ T cells than did HIV-unexposed, uninfected individuals. When the absolute number of these subsets was analyzed, the results were similar (table 4).

Because Δ32 deletion in the CCR5 gene has been associated with resistance to HIV infection, we analyzed our data excluding those individuals who were heterozygous. Exclusion of these individuals from our analyses did not change our findings (data not shown). There were no differences in the CCR5 expression

Table 4. Absolute numbers of lymphocyte subsets in study subjects at day 0.

Subset	Highly HIV-exposed, uninfected individuals (n = 21)	HIV-unexposed, uninfected individuals (n = 22)	P ^a	HIV-infected partner (n = 21)	P ^b
T lymphocyte subsets					
CD3 ⁺	1467 (177)	1571 (115)	.60	1239 (131)	.27
CD4 ⁺	830 (108)	965 (78)	.30	384 (57)	.001
CD8 ⁺	480 (72)	589 (48)	.13	777 (88)	.02
CD4⁺ T lymphocytes					
CD28 ⁺	761 (111)	949 (76)	.34	342 (56)	.003
CD28 ⁻ CD57 ⁺	24 (6.6)	12 (4.8)	.02	23 (6.6)	.71
HLA DR ⁺	82 (12)	33 (3)	.001	61 (11)	.32
CD38 ⁺	243 (37)	537 (63)	.001	230 (43)	.51
CD38 ⁺ DR ⁺	43 (7)	12 (1.1)	.002	43 (8)	.87
CD45RA ⁺ RO ⁺	54 (8.6)	24 (5.4)	.02	44 (9.1)	.26
CD45RA ⁺ RO ⁻	153 (36)	365 (48)	.003	115 (32)	.12
CD62L ⁺ CD45RA ⁺	166 (38)	375 (46)	.003	134 (35)	.26
CD45RA ⁻ RO ⁺	574 (101)	513 (44)	.87	210 (30)	<.001
CD8⁺ T lymphocytes					
CD28 ⁺	210 (42)	384 (32)	.01	357 (45)	.05
CD28 ⁻ CD57 ⁺	192 (45)	133 (27)	.21	288 (41)	.26
HLA DR ⁺	66 (17)	46 (8)	.63	279 (42)	<.001
CD38 ⁺	165 (33)	256 (25)	.007	514 (49)	<.001
CD38 ⁺ DR ⁺	28 (7)	21 (4)	.68	235 (35)	<.001
CD45RA ⁺ RO ⁺	45 (9)	25 (5)	.07	140 (20)	<.001
CD45RA ⁺ RO ⁻	256 (47)	379 (36)	.009	336 (43)	.17
CD62L ⁺ CD45RA ⁺	156 (24)	273 (26)	.025	270 (35)	.04
CD45RA ⁻ RO ⁺	161 (30)	168 (20)	.62	290 (45)	.03
CCR5 expression					
CCR5 CD4 ⁺ T cells	86 (17)	37 (5)	.005	44 (8)	.026
CCR5 CD8 ⁺ T cells	69 (13)	81 (14)	.89	136 (21)	.03
CXCR4 expression					
CXCR4 CD4 ⁺ T cells	278 (61)	250 (55)	.44	175 (41)	.07
CXCR4 CD8 ⁺ T cells	115 (27)	106 (19)	.96	209 (36)	.09

NOTE. Data are mean cells/mm³ (SE). Day 0 was defined as the day of the first scheduled visit and blood sample.

^a Comparison between highly HIV-exposed uninfected and HIV-unexposed uninfected individuals. All P values are adjusted for multiple comparisons; values of <.05 are in bold.

^b Comparison between highly HIV-exposed, uninfected individuals and HIV-infected patients.

Table 5. Correlations between plasma viral load of the HIV-1-infected partner at day 0 and immunologic parameters of highly HIV-exposed, uninfected partners at day 0.

Parameter of uninfected partners	<i>r</i>	<i>P</i>
CD4 ⁺ T cells		
CD28 ⁺	-0.44	.05
CD38 ⁺ DR ⁺	0.604	.005
CD45RA ⁺ RO ⁻	0.488	.04
CD45RA ⁺ RO ⁺	-0.53	.02
CD62L ⁺ CD45RA ⁺	-0.52	.02
CD8 ⁺ T cells		
CD45RA ⁺ RO ⁻	-0.53	.017
CD45RA ⁺ RO ⁺	0.627	.003
CCR5 expression		
CCR5 CD4 ⁺	0.51	.003
Lymphoproliferative response		
Pokeweed response	-0.702	.001

NOTE. Day 0 was defined as the day of the first scheduled visit and blood sample.

on the CD4⁺ T cells between those highly HIV exposed uninfected individuals with and without the deletion (mean [SE] CD4⁺CCR5⁺ T cells, 9.1% [2.3%] vs 13% [2.5%] respectively [*P* = .44]).

Changes in T cell subsets in serodiscordant couples (*n* = 10) between day 0 and 90 were analyzed. Levels of CD4⁺ T cell subsets showed no change in highly HIV-exposed, uninfected individuals. Conversely, there was a significant increase in CD8⁺CD28⁺ T cells (mean [SE], 45% [7.9%] at day 0 to 59% [3.9%] at day 90 [*P* = .05]) and a decrease in CXCR4 expression in both CD4⁺ and CD8⁺ T cells in these individuals (mean [SE], 37% [6.2%] at day 0 to 15% [2.7%] at day 90 [*P* = .01]; mean [SE], 25% [5.1%] at day 0 to 14% [1.8%] at day 90, respectively [*P* = .02]). Levels of CD4⁺ T cells (mean [SE], 23% [2.7%] at day 0 to 34% [3.4%] at day 90 [*P* = .03]) and CD8⁺CD28⁺ T cells (mean [SE], 48% [3.2%] at day 0 to 57% [3.3] at day 90 [*P* = .05]) also increased significantly in HIV-1-infected partners.

When compared with HIV-unexposed, uninfected individuals, highly HIV-exposed, uninfected individuals had a significantly lower SI to pokeweed at day 0 (*P* = .01). At day 90 there was a significant increase (*P* = .05) in lymphoproliferative response to pokeweed mitogens in highly HIV-exposed, uninfected individuals (mean [SE], 11 [2.8] at day 0 to 21 [3.8] at day 90 [*P* = .05]). There were no significant differences between highly HIV-exposed, uninfected subjects; HIV-unexposed, uninfected subjects; and HIV-1-infected subjects in the SIs to tetanus toxoid or cytomegalovirus (table 3). These SIs showed no change at day 90.

There were significant correlations between the PVL of the HIV-1-infected partner at day 0 and some CD4⁺ and 8⁺ T cell

subsets and lymphoproliferative responses to pokeweed of highly HIV-exposed, uninfected partners (table 5, figure 1).

HIV-1 specific responses. The proportion of positive HIV gp160 and p24 antigen-specific proliferative responses was similar in the 2 groups (HIV gp160 antigen-specific responses in 1 of 21 [couple 15] and 3 of 21 [HIV-infected patients in couples 15, 17, and 20], and p24 antigen-specific responses in 3 of 21 [HIV-infected patients in couples 9, 12, and 15] and 3 of 21 [HIV-infected patients in couples 15, 17, and 20] in highly HIV-exposed, uninfected individuals and HIV-infected patients, respectively). No positive proliferative responses

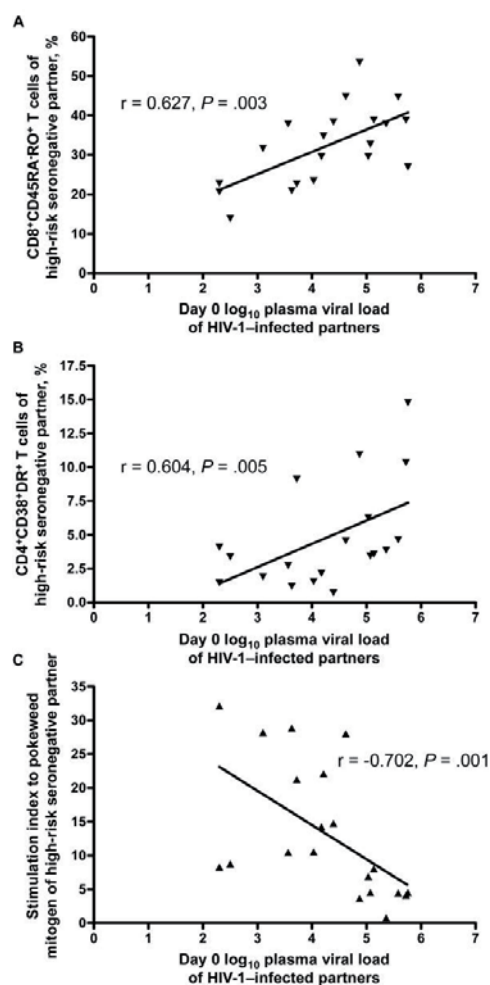


Figure 1. Correlations between the plasma viral load of the HIV-1-infected partner at day 0 and some CD4⁺ and CD8⁺ T cell subsets and lymphoproliferative responses to pokeweed mitogen among highly HIV-exposed, uninfected partners.

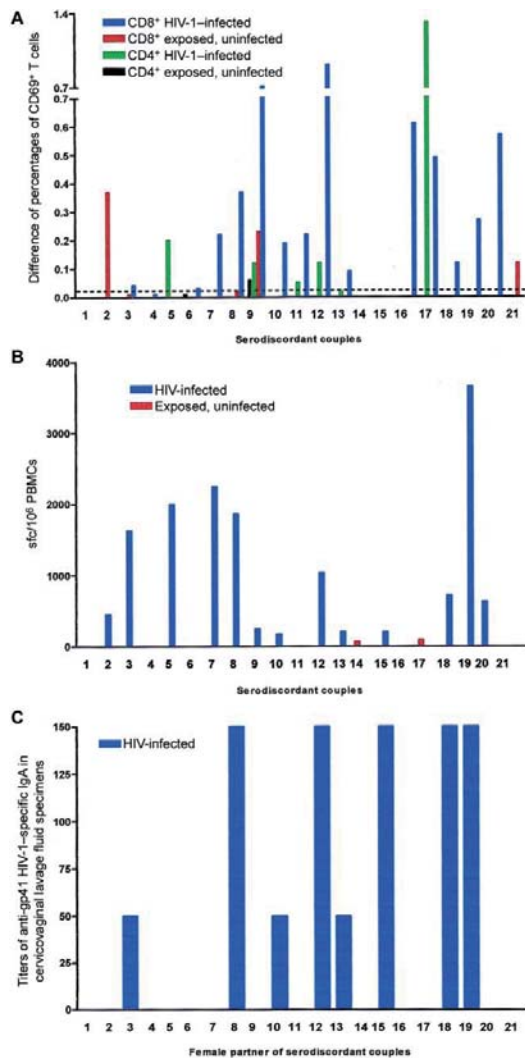


Figure 2. HIV-1-specific responses in heterosexual, highly HIV-exposed, uninfected individuals and HIV-1-infected partners. **A**, Positive responses of HIV-specific intracellular interferon (IFN)- γ production by CD4⁺ T and CD8⁺ T lymphocytes. *Black column*, IFN- γ production by CD4⁺ T cells in highly HIV-exposed, uninfected individuals; *green column*, IFN- γ production by CD4⁺ T cells in HIV-1-infected partners; *red column*, IFN- γ production by CD8⁺ T cells in highly HIV-exposed, uninfected individuals; *blue column*, IFN- γ production by CD8⁺ in HIV-1-infected partners; *dashed line*, cutoff for positive IFN- γ production $\geq 0.02\%$ of cells. **B**, CD8⁺ T cell responses measured by ELISPOT. *Red column*, Highly HIV-exposed, uninfected individuals; *blue column*, HIV-1 infected partners. **C**, Anti-gp41 HIV-1-specific IgA was measured in cervicovaginal lavage fluid specimens. *Blue column*, Female HIV-1-infected partner ($n = 16$). None of the 5 highly HIV-exposed, uninfected women had detectable titers. SFC, spot-forming cells.

against HIV recombinant proteins were detected in HIV-unexposed, uninfected individuals. There were no significant differences between highly HIV-exposed, uninfected subjects; HIV-unexposed, uninfected subjects; and HIV-1-infected individuals in levels of SI to HIV gp160 antigen and p24 antigen (table 3). These SIs showed no change at day 90.

Positive responses of HIV-specific intracellular IFN- γ production by CD4⁺ T and CD8⁺ T lymphocytes were detected in 1 of 21 (couple 9) and 4 of 21 (couples 2, 8, 9, and 21) of highly HIV-exposed, uninfected individuals, respectively. HIV-1-infected partners had positive results in 6 of 21 (couples 5, 9, 11, 12, 13, and 17) and 14 of 21 (couples 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, and 20). (comparison with highly HIV-exposed, uninfected individuals: $P = .18$ and $P = .001$, respectively) (figure 2A). These results showed no change at day 90 (data not shown). No measurements were performed in HIV-unexposed, uninfected individuals.

ELISPOT assays were only performed in 20 serodiscordant couples because of lack of cell availability in couple 17. At day 0, a total of 13 of 20 HIV-1-infected partners showed moderate to strong CD8⁺ T cell responses. Only 2 of the highly HIV-exposed, uninfected partners showed a low response to 1 peptide (individual 14, 69 sfc/10⁶ PBMCs to A03-nef; and individual 17, 95 sfc/10⁶ PBMCs to B07-p24). The median frequency of total HIV-specific CD8⁺ T cell responses in HIV-1-infected patients with positive response (HIV-infected individuals from couples 2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 18, 19, and 20) (defined as the sum of individual responses per patient) at day 0 was 1630 sfc/10⁶ PBMCs (range, 173–2250 sfc/10⁶ PBMCs) (figure 2B). The breadth of CD8⁺ T cell responses (defined as the number of peptides recognized per patient) was 2 peptides (range, 1–10). ELISPOT assays were only performed for 6 seronegative control subjects because of lack of cell availability. Results showed no positive response against HLA-matched HIV peptides tested in any of the HIV-unexposed, uninfected controls we tested. The background was lower than 20 sfc/10⁶ PBMCs.

Anti-gp41 HIV-1-specific IgA was measured in serum and cervicovaginal lavage fluid specimens. Highly HIV-exposed, uninfected individuals had low titers of this antibody. Only 8 of 21 serum samples were weak positive (1 of 50) for anti-gp41 (patients 3, 4, 8, 9, 12, 13, 19, and 20), whereas all HIV-1-infected patients had a titer of at least 1/1350. None of the 5 highly HIV-exposed, uninfected women had detectable titers in cervicovaginal lavage fluid specimens, while 8 of 16 HIV-1-infected patients had a titer of at least of 1/50 (3 patients [3, 10, 13] had a titer of 1/50, and 5 patients [8, 12, 15, 18, and 19] had a titer of 1/150) (figure 2C).

There were no significant correlations between the PVL of the HIV-1-infected partner at day 0 and any of the HIV-1-

specific responses of highly HIV-exposed, uninfected partners (data not shown).

DISCUSSION

There are 2 alternative hypotheses to explain the immunophenotypic changes observed in highly HIV-exposed, uninfected individuals. First, altered T cell subset distribution patterns in highly HIV-exposed, uninfected individuals could be a consequence of immunogenic challenges during viral exposure [2, 15, 19–22]. Biasin et al. [19] reported that mucosal and systemic immune activation were present in 9 seronegative women who had multiple episodes of unprotected heterosexual intercourse with their HIV-1–infected heterosexual partners. In the seronegative partners they found a lower level of CD4⁺ naive T cells and a higher level of CD4⁺ memory, CD4⁺CD28⁻, CD8⁺CD28⁺ and CD8⁺CD38⁺ T cells than in healthy control subjects. Other authors have reported an increase of immune activation markers in injection drug users [22] and female sex workers [20].

Conversely, the second hypothesis argues that the changes in immunological parameters observed in high-risk, HIV-exposed, uninfected individuals are a constitutive characteristic and a surrogate marker of genetic or immunological advantage, implying low susceptibility to infection rather than a response to an antigenic exposition. Some investigators have [23] found an increased level of CD8⁺ T effector cells in seronegative homosexual men who had been highly exposed 10 years before but had changed to low-risk behaviors. In another study, Koning et al. [24] investigated 42 high-risk seronegative individuals and 54 men from the same cohort who were seronegative at the time of analysis but who later became HIV seropositive. Permanently seronegative individuals had lower percentages of activated CD4⁺ T cells, lower lymphoproliferative responses and higher percentages of HLA DR⁺ CD38⁺ CD8 T cells than did seroconverters. The authors [24] suggested that the low levels of CD4⁺ T cell immune activation and low T cell responsiveness may contribute to low HIV susceptibility [25].

Our study supports the first hypothesis. We found changes in both CD4⁺ and CD8⁺ T cells in highly HIV-exposed, uninfected individuals with a lower level of naive and CD28⁺ T cells and higher level of CD45RA⁺RO⁺, CD28⁻CD57⁺, HLA-DR⁺ T cells and CD4⁺ T cells expressing CCR5 and memory CD4⁺ T cells. Our model for studying serodiscordant couples enables us to correlate PVL of HIV-1–infected partners with immune system changes observed in highly HIV-exposed uninfected individuals, and thus, an attempt can be made to associate the level of viral exposure with differentiation and activation status of T lymphocytes. To our knowledge, this is the first time that a consistent correlation has been found. The changes in memory and activated T cells observed in highly

HIV-exposed, uninfected partners were directly correlated with the PVL of the HIV-1–infected partners, whereas the changes in naive and CD28⁺ T cells observed in highly HIV-exposed uninfected partners were inversely correlated with PVL of the HIV-1–infected partners. In agreement with Koning et al. [24], we found that highly HIV-exposed, uninfected individuals had lower *in vitro* proliferation in response to mitogens (pokeweed) than did control subjects. This response was correlated inversely with PVL of the partner and increased close to normal levels (as CD8⁺CD28⁺ T cells did) when HIV exposure was discontinued for 3 months. Decreased lymphoproliferative capacity to pokeweed mitogen in HIV-negative, homosexual subjects exposed to virus, compared with heterosexual control subjects, has been described elsewhere [32]. The observed changes in the stimulation index to pokeweed between day 0 and day 90 could be probably explained by the increase in CD4⁺ T cells in HIV-infected individuals and by the reduction of certain cellular activation level and the increase in CD4⁺ CD28⁺ and naive T cells observed during this period in high risk individuals. Changes in the cytokine milieu after antigen exposure interruption [33] would also probably improve proliferative response to pokeweed mitogen.

The benefit of CCR5-Δ32 heterozygosity on protection against HIV-1 infection has not been well defined [34–37]. We could not observe differences in the CCR5 expression on the CD4⁺ T cells between those highly HIV-exposed uninfected individuals with and without the deletion, as previously described [37]. Although we could not exclude the possibility that CCR5-Δ32 heterozygosity could play a role in resistance to infection in our patients, when we excluded heterozygous individuals from the analysis the findings did not change.

All these data argue against the hypothesis that a constitutive, less reactive immune system results in lower immune activation levels. The data seem to suggest that immunophenotypic changes were a consequence of either HIV-1 exposure or antigenic level, and that immune activation of CD4⁺ T cells by itself is not sufficient to favor HIV infection, nor is it necessarily an immunological marker of HIV disease, as suggested by Biasin et al. [19]. The down-regulation of CXCR4 expression in both CD4⁺ and CD8⁺ T cells observed in highly exposed, uninfected individuals after a period free from viral exposure reinforces this hypothesis. In fact, it has been reported that CXCR4 is down-regulated either during T cell differentiation or by lack of proinflammatory or antiviral cytokines [38, 39].

Acknowledgments

We thank Margarida Bofill for her critical reading of the manuscript.

References

1. Rowland-Jones S, Sutton J, Ariyoshi K, et al. HIV-specific cytotoxic T-cells in HIV-exposed but uninfected Gambian women. *Nature Medicine* **1995**; 1:59–64.
2. Messele T, Rinke de Wit TF, Brouwer M, et al. No difference in in vitro susceptibility to HIV type 1 between high-risk HIV-negative Ethiopian commercial sex workers and low-risk control subjects. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2001**; 17:433–41.
3. Promadej N, Costello C, Wernett MM, et al. Broad human immunodeficiency virus (HIV)-specific T cell responses to conserved HIV proteins in HIV-seronegative women highly exposed to a single HIV-infected partner. *J Infect Dis* **2003**; 187:1053–63.
4. Mazzoli S, Trabattoni D, Lo CS, et al. HIV-specific mucosal and cellular immunity in HIV-seronegative partners of HIV-seropositive individuals. *Nat Med* **1997**; 3:1250–7.
5. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* **2000**; 342:921–9.
6. Soriano A, Martinez C, Garcia F, et al. Plasma stromal cell-derived factor (SDF)-1 levels, SDF1–3'A genotype, and expression of CXCR4 on T lymphocytes: their impact on resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection and its progression. *J Infect Dis* **2002**; 186:922–31.
7. Kaslow RA, Dorak T, Tang JJ. Influence of host genetic variation on susceptibility to HIV type 1 infection. *J Infect Dis* **2005**; 191(Suppl 1): S68–77.
8. Gonzalez E, Kulkarni H, Bolivar H, et al. The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility. *Science* **2005**; 307:1434–40.
9. Soriano A, Lozano F, Oliva H, et al. Polymorphisms in the interleukin-4 receptor alpha chain gene influence susceptibility to HIV-1 infection and its progression to AIDS. *Immunogenetics* **2005**; 57:644–54.
10. Kebba A, Kaleebu B, Rowland S, et al. Distinct patterns of peripheral HIV-1-specific interferon- γ responses in exposed HIV-1-seronegative individuals. *J Infect Dis* **2004**; 189:1705–13.
11. Kaul R, Plummer FA, Kimani J, et al. HIV-1-specific mucosal CD8⁺ lymphocyte responses in the cervix of HIV-1-resistant prostitutes in Nairobi. *J Immunol* **2000**; 164:1602–11.
12. Makedonas G, Bruneau J, Alary M, et al. Comparison of HIV-specific CD8 T-cell responses among uninfected individuals exposed to HIV parenterally and mucosally. *AIDS* **2005**; 19:251–9.
13. Lopalco L, Barassi C, Pastori C, et al. CCR5-reactive antibodies in seronegative partners of HIV-seropositive individuals down-modulate surface CCR5 in vivo and neutralize the infectivity of R5 strains of HIV-1 In vitro. *J Immunol* **2000**; 164:3426–33.
14. Barassi C, Lazzarin A, Lopalco L. CCR5-specific mucosal IgA in saliva and genital fluids of HIV-exposed seronegative subjects. *Blood* **2004**; 104: 2205–6.
15. Lo CS, Trabattoni D, Vichi F, et al. Mucosal and systemic HIV-1-specific immunity in HIV-1-exposed but uninfected heterosexual men. *AIDS* **2003**; 17:531–9.
16. Eyeson J, King D, Boaz MJ, et al. Evidence for Gag p24-specific CD4 T cells with reduced susceptibility to R5 HIV-1 infection in a UK cohort of HIV-exposed-seronegative subjects. *AIDS* **2003**; 17:2299–311.
17. Hladik F, Desbien A, Lang J, et al. Most highly exposed seronegative men lack HIV-1-specific, IFN- γ -secreting T cells. *J Immunol* **2003**; 171: 2671–83.
18. Koning FA, Jansen CA, Dekker J, et al. Correlates of resistance to HIV-1 infection in homosexual men with high-risk sexual behavior. *AIDS* **2004**; 18:1117–26.
19. Biasin M, Caputo SL, Speciale L, et al. Mucosal and systemic immune activation is present in human immunodeficiency virus-exposed seronegative women. *J Infect Dis* **2000**; 182:1365–74.
20. Jennes W, Sawadogo S, Koblavi-Deme S, et al. Cellular human immunodeficiency virus (HIV)-protective factors: a comparison of HIV-exposed seronegative female sex workers and female blood donors in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Infect Dis* **2003**; 187:206–14.
21. Killian MS, Monteiro J, Matud J, et al. Persistent alterations in the T-cell repertoires of HIV-1-infected and at-risk uninfected men. *AIDS* **2004**; 18:161–70.
22. Tran HK, Chartier L, Troung LX, et al. Systemic immune activation in HIV-1-exposed uninfected Vietnamese intravascular drug users. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2006**; 22:255–61.
23. Yang OO, Boscardin WJ, Matud J, et al. Immunologic profile of highly exposed yet HIV type 1-seronegative men. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2002**; 18:1051–65.
24. Koning FA, Otto SA, Hazenberg MD, et al. Low-level CD4⁺ T cell activation is associated with low susceptibility to HIV-1 infection. *J Immunol* **2005**; 175:6117–22.
25. Begaud E, Chartier L, Marechal V, et al. Reduced CD4 T cell activation and in vitro susceptibility to HIV-1 infection in exposed uninfected Central Africans. *Retrovirology* **2006**; 3:35–44.
26. Dean M, Carrington M, Winkler C, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. *Science* **1996**; 273:1856–62.
27. Libois A, Lopez A, Garcia F, et al. Dynamics of T cells subsets and lymphoproliferative responses during structured treatment interruption cycles and after definitive interruption of HAART in early chronic HIV type-1-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2006**; 22:657–66.
28. Pitcher C, Quittner C, Peterson D, 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.
29. Garcia F, Plana M, Arnedo M, et al. A cytostatic drug improves control of HIV-1 replication during structured treatment interruptions. A randomized study. *AIDS* **2003**; 17:43–51.
30. Clerici M, Barassi C, Devito C, et al. Serum IgA of HIV-exposed uninfected individuals inhibit HIV through recognition of a region within the alpha-helix of gp41. *AIDS* **2002**; 16:1731–41.
31. Lopalco L, Barassi C, Paolucci C, et al. Predictive value of anti-cell and anti-human immunodeficiency virus (HIV) humoral responses in HIV-1-exposed seronegative cohorts of European and Asian origin. *J Gen Virol* **2005**; 86:339–48.
32. Barabas E, Kemeny B, Gonzalez R, Varkonyi V, Nagy K, Horvath A. A comparison of the lymphoproliferative capacity of pokeweed mitogen (PWM) and phytohaemagglutinin (PHA) in CCR-5 wild-type and heterozygous HIV-infected and uninfected subjects. *Int J STD AIDS* **2002**; 13:691–7.
33. de la Calle-Martin O, Alberola J, Engel P, et al. Impaired post-transcriptional expression of interleukin-2 receptor in pokeweed mitogen-activated T cells. *Eur J Immunol* **1992**; 22:897–902.
34. Ioannidis JP, Rosenberg PS, Goedert JJ, et al. Effects of CCR5-Delta32, CCR2-64I, and SDF-1 3'A alleles on HIV-1 disease progression: an international meta-analysis of individual-patient data. *Ann Intern Med* **2001**; 135:782–95.
35. Philpott S, Weiser B, Tarwater P, et al. CC chemokine receptor 5 genotype and susceptibility to transmission of human immunodeficiency virus type 1 in women. *J Infect Dis* **2003**; 187:569–75.
36. Huang Y, Paxton WA, Wolinsky SM, et al. The role of a mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat Med* **1996**; 2: 1240–3.
37. Hladik F, Liu H, Speelman E, et al. Combined effect of CCR5-Delta32 heterozygosity and the CCR5 promoter polymorphism -2459 A/G on CCR5 expression and resistance to human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J Virol* **2005**; 79:11677–84.
38. Kobayashi N, Takata H, Yokota S, Takiguchi M. Down-regulation of CXCR4 expression on human CD8⁺ T cells during peripheral differentiation. *Eur J Immunol* **2004**; 34:3370–8.
39. Patterson BK, Czerniewski M, Andersson J, et al. Regulation of CCR5 and CXCR4 expression by type 1 and type 2 cytokines: CCR5 expression is downregulated by IL-10 in CD4-positive lymphocytes. *Clin Immunol* **1999**; 91:254–62.

Publicació 2: **Fertility assessment in non-infertile HIV infected women and their partners.**

O Coll, M Lopez, R Vidal, F Figueras, **A Suy**, S Hernandez, M Loncà, M Palacio, E Martinez, V Vernaev. Reproductive BioMedicine Online 2007; 14:488-494. **(IF:3,21)**

Article

Fertility assessment in non-infertile HIV-infected women and their partners



Dr Oriol Coll

Dr Oriol Coll is the head of High Risk Obstetrics at the Hospital Clínic at the University of Barcelona, as well as associated professor there; he is also director of Clinica Eugin, a fertility clinic. All these institutions are located in Barcelona, Spain. His primary focus is infectious diseases and reproductive health. He trained as an obstetrician and gynaecologist in the Hospital Clínic and completed a Fellowship in Infectious Diseases and Reproductive Immunology at the University of California, San Francisco from 1988 to 1990. His major areas of research include HIV from preconception to birth and assisted reproduction.

O Coll^{1,4}, M Lopez¹, R Vidal¹, F Figueras¹, A Suy¹, S Hernandez¹, M Loncà³, M Palacio¹, E Martinez³, V Vermaeve²

¹Department of Obstetrics, IDIBAPS, Hospital Clínic, University of Barcelona, Sabino de Arana, 1, 08028 Barcelona, Spain; ²Clinica Eugin, Entença, 293, 08029 Barcelona, Spain; ³Servei de Malalties Infeccioses, Hospital Clínic, University of Barcelona, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain

⁴Correspondence: Department of Maternal Fetal Medicine, Hospital Clínic-Maternitat, University of Barcelona, Sabino de Arana, 1, 08028 Barcelona, Spain; e-mail: ocoll@clinic.uib.es

Abstract

The objective of the study was to assess the fertility of non-infertile couples seeking pregnancy in whom the woman was HIV infected. Therefore, a cross-sectional study was conducted between January 1998 and March 2005. A standardized fertility assessment was performed in all the included couples. A total of 130 women and 121 men were evaluated. Their median age was 34 years (range 22–43). Only 7.2% of the women were severely immunocompromised. The majority of women had regular cycles. Only one woman had an active sexually transmitted disease at the time of evaluation. A tubal occlusion on hysterosalpingogram was present in 27.8% of the women with no proven fertility. In 50.5% of the women, hepatitis C virus co-infection was present. One-third of the male partners (38/121) was infected with HIV. Abnormal semen parameters were observed in 83.4% of HIV-infected and 41.7% of HIV-uninfected partners (OR = 7; 95% CI = 2.1–23). It is concluded that the great majority of the HIV-infected women seeking pregnancy had a good infection status. Because in many of the couples, the women presented unexplained tubal occlusions and the men presented semen alterations, a hysterosalpingography and semen analysis should be part of the preconceptional investigations.

Keywords: counselling, Fallopian tubes, HIV, infertility, sperm quality

Introduction

Although in the past it was common practice to advise HIV-infected women to postpone pregnancy, in most developed countries this is no longer the case (Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2002; American College of Obstetricians and Gynecologists, 2004; FIGO Committee for the Ethical Aspects of Human Reproduction and Women's Health, 2006). This situation is the result of advances that have been made in the reduction of mother-to-child transmission of HIV infection to an almost negligible (<2%) rate by the introduction of HAART (highly active anti retroviral treatment), Caesarean section in selected cases and avoidance of breast-feeding (Mandelbrot *et al.*, 1998; Iribarren *et al.*, 2001; European Collaborative Study, 2005a). Health and life

expectancy of seropositive women, most of them being in their reproductive years, has also been improved by the introduction of antiretroviral medications that further enable them to consider having children. In keeping with these recommendations, the number of HIV-infected women who have subsequent live births has increased in recent years (European Collaborative Study, 2005b).

Some preliminary epidemiological studies suggest that HIV-infected women may have a decreased fertility rate (Stephenson and Griffioen, 1996; De Vincenzi *et al.*, 1997; Gray *et al.*, 1998; Lewis *et al.*, 2004; Ross *et al.*, 2004; European Collaborative Study, 2005b) but definitive information is lacking, especially

in developed countries where patients are treated with HAART. Menstruation disturbances associated with low CD4 cell counts have been described in advanced stages of AIDS (Hinz *et al.*, 2002). Severe ovarian dysfunction, such as premature ovarian failure or ovarian resistance to stimulation, has also been observed (Clark *et al.*, 2001; Englert *et al.*, 2004). A lower pregnancy rate after IVF has also recently been described in a matched controlled study (Coll *et al.*, 2006). Furthermore, HIV-infected women have been reported to have a 10-fold greater frequency of upper genital tract infections and their sequelae than the general population of women (Sobel, 2000). Nevertheless, prospective information is lacking in HIV-infected women and their partners regarding fertility assessment at the time of preconception counselling.

Therefore, this study aimed to assess fertility parameters in HIV-infected women and their partners at preconception counselling, in couples without previous infertility.

Materials and methods

Patients

This cross-sectional study included consecutive HIV-infected women seeking pregnancy who attended an outpatient clinic in a tertiary university hospital between January 1st 1998 and March 31st 2005.

Women with a known infertility such as a prior tubal ligation, history of PID with known blocked tubes on a previous HSG or a history of unprotected intercourse for 1 year were excluded from the study. Women were included regardless of male HIV status and single women were also enrolled.

During the first visit, a detailed anamnesis was taken for all the included women by means of a standardized interview including: (i) socio-demographic data: age, ethnicity; (ii) toxic use and drug abuse: cigarette smoking, ethanol consumption, use of illicit drugs, intravenous drug use (IVDU) and methadone maintenance therapy; (iii) obstetric data: parity, prior exposed children, infected children, menstrual pattern, prior sexually transmitted diseases (STD) and cervical pathology, prior gynaecological surgery; and (iv) HIV-related variables: date of diagnosis, reason for HIV testing, mode of acquisition, opportunistic infections, CDC stage (Revised Classification System for HIV Infection, 1993), use of prophylactic drugs for opportunistic infections and antiretroviral (ARV) therapy at the time of first evaluation. All male counterparts underwent a similar interview.

Couples without medical contraindication for pregnancy (namely, active drug use, non-stable HIV disease and no drug compliance) were informed about the general and specific risks of mother-to-child transmission of HIV, ARV toxicity for mother, fetus and newborn. Providing that they continued with their desire for pregnancy, they were scheduled for further assessment. At that time, a standard written form needed to be filled in by the specialist in infectious diseases in charge of the women, and the men if also infected. This form included information about HIV-related characteristics.

Complementary examinations performed in the HIV-infected women

A standard examination was performed including: (i) height and weight; (ii) PAP test and cervico-vaginal cultures for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*; (iii) laboratory tests including hologram, liver biochemistry and renal function, serological assessment of *Rubella*, toxoplasmosis, cytomegalovirus (CMV), hepatitis B surface antigen (HbsAg), syphilis, hepatitis C virus (HCV; viral load by quantitative PCR if indicated) and HIV-related tests (viral load, CD4 counts); (iv) basal FSH, LH and oestradiol concentrations at day 3 of their menstrual cycle; (v) transvaginal pelvic ultrasound; and (vi) an HSG if the results of these investigations were satisfactory and the women did not have a recent proven fertility: if necessary, a hysteroscopy or laparoscopy or both were performed.

Complementary examinations performed in the male partner

The investigations performed in the male partner included similar laboratory tests with additional HIV screening. In HIV-infected men, standard HIV-related tests were performed. Finally, a spermogram (World Health Organization, 1999a) and urethral cultures were performed in all cases.

Results

Analysis was performed on 130 HIV-infected women wishing to become pregnant with no prior history of infertility. The total number of male partners was 121 (two women were single and in seven couples, the male partner was not assessed).

The median age was 34 years (range 22–43) and 36 years (range 25–54) for women and men, respectively. General characteristics of the cohort are described in **Table 1**. The country of origin of the patients was mainly Spain (89.2%) and the median duration of the couple's relationship was 72 months (2–216).

In 94 women, HIV had been diagnosed in the pre-HAART era (72.3%). Details on HIV-related characteristics are shown in **Table 2**. HCV co-infection was very common (50.4%). Women with a history of IVDU or blood transfusion prior to 1989 were more likely to be HCV co-infected than women without such history (76.7% (33/43) versus 33.8% (23/68)).

Among the women who underwent an HSG, 27.8% (20/72) had a unilateral ($n = 13$) or bilateral ($n = 7$) tubal occlusion. When excluding women with a prior history of PID, pelviperitonitis or tubal surgery, a tubal occlusion was identified in 23.4% (15/64) of cases. Of the 81 women who had a pelvic ultrasound performed, an anomaly was found in 12 (14.8%). Results of the complementary examinations performed among the study population are shown in **Table 3**.

Of the evaluated male partners, 31.1% were HIV-infected too and most of them were in good general health (7.9% were severely immunocompromised and 23.7% had more than 1000 HIV copies/ml). Of the HIV-infected men, 84% were under antiretroviral treatment with HAART. Sperm analysis was performed for 69.4% of all men. None of the three severely immunocompromised men

Table 1. General characteristics of the study population.

<i>Characteristic</i>	<i>Women (n = 130)</i>	<i>Men (n = 121)</i>
Caucasian ethnicity	122 (93.8)	116 (95.9)
Toxic use and drug abuse		
Cigarette smoking	83 (63.8)	70 (57.9)
Prior IVDU	42 (32.3)	25 (1 current user) (20.7)
Months from cessation of IVDU ^a	120 (24–240)	120 (18–240)
Current methadone use	8 (19.0)	5 (20.0)
Other current toxics	10 [7 ethanol, 3 cannabis] (7.7)	9 [5 ethanol, 4 cannabis] (7.4)
Prior history of STD	47 (36.2)	15 (12.4)
HPV related	38 (80.9)	9 (60.0)
Genital herpes	6 (12.8)	0 (0)
<i>Trichomona vaginalis</i>	3 (6.4)	0 (0)
Gonorrhoea/ <i>Chlamydia</i>	1 (2.1)	5 (33.3)
Syphilis	2 (4.3)	1 (6.7)
Pelvic inflammatory disease	3 (6.4)	–
Abnormal menstrual cycle	14 (10.8)	–
Obstetric history ^b		
Women with prior pregnancy	78 (60.0)	–
Abortion;	65 (50.0)	–
Miscarriage	24 (18.5)	–
Termination	46 (35.4)	–
Delivery	33 (25.4)	–
Live born	29 (87.9)	–
Known HIV exposed infants	27 9 (20.8)	–
HIV-infected children	33.3	–
Condom use in discordant couples		
Always	55/70 (78.6)	–
Sometimes	11/70 (15.7)	–
Never	4/70 (5.7)	–
Body mass index ^c	21.7 (16.8–33.3)	–
Underweight (<18.5)	7 (5.4)	–
Normal (18.5–24.9)	107 (82.3)	–
Overweight (>25)	16 (12.3)	–
Prior history		
Gynaecological surgery	7 (5.4)	–
Andrological pathology	–	9 (7.4)

Values are numbers with percentages in parentheses unless otherwise stated.

HPV: human papilloma virus; IVDU: intravenous drug use; STD: sexually transmitted diseases.

^aMean (range).

^bRefers to women, not to number of prior pregnancies.

^cMedian (range).

Table 2. HIV characteristics of patients.

	<i>HIV-infected women</i>	<i>HIV-infected men</i>
No. of HIV infected patients	130 (100)	38 (31.4)
Months from infection diagnosis ^a	87 (1–213)	98 (11–240)
Reason for HIV testing		
HIV-infected child	6 (4.6)	0 (0)
Routine screening	50 (38.5)	9 (23.7)
Targeted screening	44 (33.8)	8 (21.1)
Clinical signs or symptoms	22 (16.9)	17 (44.7)
Unknown	8 (6.2)	4 (10.5)
Acquisition of HIV infection		
Sexual	89 (68.5)	20 (52.6)
IVDU	38 (29.2)	18 (47.4)
Blood transfusion	3 (2.3)	0 (0)
Opportunistic infections	45 (34.6)	16 (42.1)
CDC stage C ^b	19/124 (15.3)	7 (18.4)
ARV therapy		
None	20 (15.4)	6 (15.8)
Mono/double	14 (10.8)	0 (0)
HAART	96 (73.8)	32 (84.2)

Values are numbers with percentages in parentheses unless otherwise stated.
 ARV: antiretroviral; HAART: highly active antiretroviral treatment; IVDU: intravenous drug use.
^aMedian (range).
^bRevised classification system for HIV infection (1993).

Delivered by Ingenta to:
 Biblioteca de la Universitat de Barcelona
 IP: 161.116.100.92
 Tue, 14 Jul 2009 10:33:16

Table 3. Complementary tests among the study population.

	<i>HIV women</i>	<i>HIV-infected men</i>
CD4 counts (cells/ μ l)		
>500	67/130 (51.5)	19/38 (50.0)
200–500	49/130 (37.7)	11/38 (28.9)
<200	9/130 (6.9)	3/38 (7.9)
Missing	5/130 (3.8)	5/38 (13.2)
Viral load (copies/ml) ^a		
<200	83/130 (63.8)	22/38 (57.9)
200–1000	11/130 (8.5)	2/38 (5.3)
>1000	31/130 (23.8)	9/38 (23.7)
Missing	5/130 (3.8)	5/38 (13.2)
Co-infections		
Hepatitis C	56/111 (50.5)	25/93 (26.9)
Positive PCR	36/39 (92.3)	13/14 (92.9)
Hepatitis B	1/111 (0.9)	1/93 (1.1)
Syphilis	0/111 (0)	1/93 (1.1)
Cervical/urethral cultures		
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1/99 (1.0)	0/93 (0)
Gonococcus	0/99 (0)	0/93 (0)
Abnormal PAP smear	8/91 (8.8)	–
FSH > 12 IU/ml	9/97 (9.3)	–
Abnormal pelvic ultrasound	12/81 (14.8)	–
Abnormal hysterosalpingogram	28/72 (38.9)	–
Tubal occlusion	20/72 (27.8)	–
Unilateral	13/20 (65.0)	–
Bilateral tubal	7/20 (35.0)	–
Uterine anomaly	10/72 (13.9)	–
Abnormal hysteroscopy	5/10 (50.0)	–

Values are numbers with percentages in parentheses unless otherwise stated.
^aHIV-infected patients only (all women but only some men).

Table 4. Semen analysis in accordance to HIV status.

	<i>HIV infected</i> (n = 24)	<i>Not HIV infected</i> (n = 60)	<i>OR (95% CI)</i>
Abnormal spermogram	20 (83.3)	25 (41.7)	7 (2.1–23)
Oligozoospermia, azoospermia	4 (16.7)	3 (5.0)	3.8 (0.78–18.5)
Asthenozoospermia	17 (70.8)	24 (40.0)	3.6 (1.3–10.1)
Teratozoospermia	12 (50.0)	16 (26.7)	2.75 (1.03–7.4)

were assessed. Sperm abnormalities were found in 53.6% of them (45/84). Asthenozoospermia and teratozoospermia were more frequent among HIV-infected than non-infected men (Table 4).

Of the HIV-infected males, only six were untreated and therefore no analysis could be done on the impact of ARV therapy on semen quality.

Discussion

Nowadays, an increasing number of HIV-infected women look for preconception advice because those of active reproductive age form the largest group of affected people and an increasing number of them have a good life expectancy and are free of drug abuse and in good general health (Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2004; Shenfield *et al.*, 2004). The risk of mother-to-child transmission is related to maternal status (World Health Organization, 1999b) and several of the antiretroviral treatments available may cause teratogenicity or are related to maternal complications, such as hepatotoxicity, pre-eclampsia or fetal complications such as premature delivery or fetal death (Mofenson, 2002; Thorne and Newell, 2005; Timmermans *et al.*, 2005). It is therefore essential to discuss the potential risks with the couple, to make treatment adjustments and to decide whether a pregnancy is contraindicated as well as to assess their fertility potential. Noticeably, among these highly motivated couples, more than 20% of discordant couples do not systematically use condoms. This underscores the need of a multidisciplinary approach to adequately assess and inform discordant couples with specialists in the field of infectious diseases, maternal-fetal medicine, neonatology and social work. The goals are to prevent primary sexual infection, to reduce mother-to-infant transmission and to assist long-term family planning.

This study includes a large homogeneous cohort of couples without prior history of infertility and shows that the majority of the examined couples had had a long-term partnership. In addition, the patients were in good general health and presented a stable HIV infection with good treatment compliance as shown by their viral load. As also reported in the registry of Catalonia, the majority of the women were infected after sexual contact (CEESCAT, 2004). A history of IVDU was not frequently encountered and if so, a median abstinence time of 10 years was present. It was also found that a high number of women were diagnosed with a HIV infection through an HIV-infected child. These women may show a higher tendency to seek preconception counselling. Actually, according to the national Spanish recommendations, all women are screened at their first prenatal visit.

Few women reported previous gynaecological pathologies and the majority of them had regular menstrual cycles. These observations are not in contradiction to the ones of Hinz *et al.* (2002), as the women in this study presented a stable HIV infection and menstrual disturbances were associated with low CD4 cell counts. Interestingly, in both partners, the history of sexually transmitted diseases was relatively low. However, human papillomavirus was frequently found, as previously reported by Piketty and Kazatchkine (2005). Other co-infections were not frequently encountered, with the

exception of HCV present in half the women and a quarter of the HIV-infected men. Interestingly, about a third of patients with no parental risk, ie IVDU or blood transfusion before 1989, were HCV co-infected. This finding stresses the need to perform an HCV test in all HIV-infected women. On the routine evaluation, few abnormal findings were present except for a high rate of tubal pathology upon HSG. HSG was only performed in women with no recent pregnancy. Even after the exclusion of women with a prior disease that was associated with tubal damage and infertility, an abnormal HSG was found in 23.4% of them. Some of these tubal occlusions were unilateral and a spasm sometimes could not be excluded. This percentage exceeds even the previously described 14% in the subfertile non-HIV population (Hull *et al.*, 1985). A similar study, but only including subfertile HIV-infected women attending a fertility clinic, found a 40% prevalence of tubal factor infertility (Frodsham *et al.*, 2006). These results suggest that a routine HSG should be part of the initial evaluation in all HIV-infected women if no previous pregnancy was reported. Hormonal anomalies were found in few women and therefore hormone analysis does not seem to be necessary during routine evaluation. Furthermore, in this population, no relation between hormonal concentrations and pregnancy rate after IVF has been found (Coll *et al.*, 2006).

HIV infection was present in nearly one-third of the male partners and most of these were in a stable condition. When assessing sperm quality, HIV-infected men had a higher prevalence of global seminal abnormalities than the non-infected ones. This is in agreement with previously published articles (Dulioust *et al.*, 2002; Englert *et al.*, 2004; Nicopoulos *et al.*, 2004). However proper controls were lacking in this study. These HIV-uninfected men are the best available controls since they have similar backgrounds to the infected ones. Nevertheless, no definitive conclusions could be drawn on the impact of the HIV infection and ARV therapy because the great majority of men were treated with HAART.

This study could conclude that couples in whom the female partner is HIV-infected and who seek prenatal counselling are in good general health. Nevertheless, a potential bias exists as this study may mainly include women who have a greater compliance to therapy. This study only concerns women who seek preconceptional counselling and this subgroup may have a different profile than the general pool of infected women. This study stresses the need for preconception consultation, not only in order to inform the couple about the potential risks and to make treatment adjustments, but also to perform some preliminary examinations. A high number of tubal anomalies and abnormal Pap smears were found. Therefore, a Pap test and an HSG, in the absence of a previous pregnancy, should be part of the routine evaluation. Among HIV-infected men, a spermogram seems to be mandatory since many abnormal findings were present.

The follow-up of the patients enrolled in this study, who had no medical contraindication for pregnancy will enable us to investigate if the spontaneous fertility rate of these couples is diminished as suggested in epidemiological and IVF studies.

Acknowledgements

We would like to thank the clinical and paramedical staff of the Department of Obstetrics of the institution and especially the nurses Susana Nicolau and Montse Vives.

References

- American College of Obstetricians and Gynecologists 2004 Human Immunodeficiency Virus. In: ACOG Committee on Ethics *Ethics in Obstetrics and Gynecology*. American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington.
- CEESCAT 2004 Sistema Integrat de Vigilancia Epidemiològica de l'HIV/ITS a Catalunya (SIVES). Generalitat de Catalunya. Departament de Salut.
- Clark RA, Mulligan K, Stamenovic E *et al.* 2001 Frequency of anovulation and early menopause among women enrolled in selected adult AIDS clinical trials group studies. *The Journal of Infectious Diseases* **184**, 1325–1327.
- Coll O, Suy A, Figueras F *et al.* 2006 Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART. *AIDS* **20**, 121–123.
- De Vincenzi I, Jadand C, Couturier E *et al.* 1997 Pregnancy and contraception in a French cohort of HIV-infected women. SEROCO Study Group. *AIDS* **11**, 333–338.
- Duloust E, Du AL, Costagliola D *et al.* 2002 Semen alterations in HIV-1 infected men. *Human Reproduction* **17**, 2112–2118.
- Englert Y, Lesage B, Van Vooren JP *et al.* 2004 Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral diseases. *Human Reproduction Update* **10**, 149–162.
- Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2004 Human immunodeficiency virus and infertility treatment. *Fertility and Sterility* **82**, (Suppl. 1), S228–S231.
- Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2002 Human immunodeficiency virus and infertility treatment. *Fertility and Sterility* **77**, 218–222.
- European Collaborative Study (Agangi A, Thorne C, Newell ML) 2005a Increasing likelihood of further live births in HIV-infected women in recent years. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* **112**, 881–888.
- European Collaborative Study 2005b Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases* **40**, 458–465.
- FIGO Committee for the Ethical Aspects of Human Reproduction and Women's Health 2006 HIV and Fertility Treatment *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* **93**, 187–188.
- Frodsham L, Boag F, Barton S, Gilling-Smith C 2006 Human Immunodeficiency virus infection and fertility care in the United Kingdom: demand and supply. *Fertility and Sterility* **85**, 285–289.
- Gray RH, Wawer MJ, Serwadda D *et al.* 1998 Population-based study of fertility in women with HIV-1 infection in Uganda. *Lancet* **351**, 98–103.
- Hinz S, McCormack D, van der Spuy ZM 2002 Endocrine function in HIV-infected women. *Gynecological Endocrinology* **16**, 33–38.
- Hull MG, Glazener CM, Nelly NJ *et al.* 1985 Population study of causes, treatment and outcome of infertility. *British Medical Journal* **291**, 1693–1697.
- Iribarren JA, Ramos JT, Guerra L *et al.* 2001 Prevention of vertical transmission and treatment of infection caused by the human immunodeficiency virus in the pregnant woman. Recommendations of the Study Group for AIDS, Infectious Diseases, and Clinical Microbiology, the Spanish Pediatric Association, the National AIDS Plan and the Spanish Gynecology and Obstetrics Society. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* **19**, 314–335.
- Lewis JJ, Ronsmans C, Ezeh A, Gregson S 2004 The population impact of HIV on fertility in sub-Saharan Africa. *AIDS* **18**, (Suppl. 2), S35–S43.
- Mandelbrot L, Le Chenadec J, Berrebi A *et al.* 1998 Perinatal HIV-1 transmission: interaction between zidovudine prophylaxis and mode of delivery in the French perinatal cohort. *The Journal of the American Medical Association* **280**, 55–60.
- Mofenson LM 2002 U.S. Public Health Service Task Force recommendations for use of antiretroviral drugs in pregnant HIV-1-infected women for maternal health and interventions to reduce perinatal HIV-1 transmission in the United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) Recommendations and Reports* **51**, 1–38; quiz CE1–4.
- Nicopoulos JD, Almeida PA, Ramsay JW, Gilling-Smith C 2004 The effect of HIV on sperm parameters and the outcome of IUI following sperm washing. *Human Reproduction* **19**, 2289–2297.
- Piketty C, Kazatchkine MD 2005 Human papillomavirus-related cervical and anal disease in HIV-infected individuals in the era of highly active antiretroviral therapy. *Current HIV/AIDS Reports* **2**, 140–145.
- Revised classification system for HIV infection 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) Recommendations and Reports* 1992; **41**, 1–19.
- Ross A, Van der Paal L, Lubega R *et al.* 2004 HIV-1 disease progression and fertility: the incidence of recognized pregnancy and pregnancy outcome in Uganda. *AIDS* **18**, 799–804.
- Shenfield F, Pennings G, Cohen J *et al.* 2004 Taskforce 8: ethics of medically assisted fertility treatment for HIV positive men and women. *Human Reproduction* **19**, 2454–2456.
- Sobel JD 2000 Gynecologic infections in human immunodeficiency virus-infected women. *Clinical Infectious Diseases* **31**, 1225–1233.
- Stephenson JM, Griffioen A 1996 The effect of HIV diagnosis on reproductive experience. Study Group for the Medical Research Council Collaborative Study of Women with HIV. *AIDS* **10**, 1683–1687.
- Thorne C, Newell ML 2005 The safety of antiretroviral drugs in pregnancy. *Expert Opinion on Drug Safety* **4**, 323–335.
- Timmermans S, Tempelman C, Godfried MH *et al.* 2005 Dutch HMF Study Group: nelfinavir and nevirapine side effects during pregnancy. *AIDS* **19**, 795–799.
- World Health Organization 1999a *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction* 4th edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- World Health Organization 1999b *HIV in pregnancy: A review*. World Health Organization.

Received 30 October 2006; refereed 5 December 2006; accepted 2 February 2007.

Publicació 3: Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART

Oriol Coll, **Anna Suy**, Francesc Figueras, Valerie Vernaeve, Esteban Martínez, Daniel Mataró, Mercè Durban, Montserrat Lonca, Ricard Vidal and José María Gatell. AIDS 2006; 20:121-123. **(IF:5,46)**

anti-infectious therapy [2–4]. Second, an inflammatory reaction unmasks smouldering but active infection [2–4]. One case illustrates a borderline reaction between these two different mechanisms. The timing, unusual clinical manifestations and favourable outcome without the modification of treatment suggested that clinical manifestations were probably linked to immunological changes associated with HAART. Interestingly, the unique unpublished histoplasmosis-associated IRIS case was comparable [9].

In conclusion, histoplasmosis broadens the spectrum of opportunistic pathogens inducing IRIS in HIV-infected patients.

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr Nathalie Mémain who participated in the collection of data.

Departments of ^aInfectious and Tropical Diseases, and ^bPathology, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France; ^cDepartment of Infectious and Tropical Diseases, Université Paris V, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France; and Departments of ^dInternal Medicine, and ^ePathology, Hôpital Robert Ballanger, Aulnay-sous-Bois, France; ^fDepartment of Medicine, Hôpital Franck Joly, Saint-Laurent-du Maroni, French Guyana; ^gDepartment of Histotechnology and Pathology, Institut Pasteur, Paris, France; and ^hNational Reference Center for Mycoses and Antifungals, Institut Pasteur, Paris, France.

Received: 10 November 2004; revised: 17 November 2004; accepted: 30 November 2004.

References

1. Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez E, Tubiana R, *et al*. Positive effect of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997; **277**:112–116.
2. DeSimone JA, Pomerantz RJ, Babinchak TJ. Inflammatory reactions in HIV-1 infected persons after initiation of highly active antiretroviral therapy. *Ann Intern Med* 2000; **133**:447–454.
3. Shelburne SA III, Hamill RJ, Rodriguez-Barradas MC, Greenberg SB, Atmar RL, Musher DM, *et al*. Immune reconstitution inflammatory syndrome: emergence of a unique syndrome during highly active antiretroviral therapy. *Medicine* 2002; **81**:213–227.
4. French MA, Price P, Stone SF. Immune restoration disease after antiretroviral therapy. *AIDS* 2004; **18**:1615–1627.
5. Goodwin RA, Loyd JE, Des Prez RM. Histoplasmosis in normal hosts. *Medicine* 1981; **60**:231–266.
6. Wheat LJ, Connolly-Stringfield PA, Baker RL, Curfman MF, Eads ME, Israel KS, *et al*. Disseminated histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome: clinical finding, diagnosis and treatment, and review of the literature. *Medicine* 1990; **69**:361–374.
7. Chandler FW, Watts JC. Histoplasmosis capsulati. In: DH Connor, FW Chandler, editors. *Pathology of infectious diseases*. Stamford, Connecticut: Appelton and Lange; 1987; pp. 1007–1015.
8. Lucas SB. *Histopathology in clinical tuberculosis*. London: Chapman and Hall; 1998; pp. 113–127.
9. Bottaro E, Elsner B, Cassetti Y. Histoplasmosis and HAART: appearance of adenomegaly during treatment [in Spanish]. In: *Third Argentinean Congress on AIDS*. Mar del Plata, Argentina, 1997.

Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART

Oriol Coll^{a,b}, Anna Suy^{a,b}, Francesc Figueras^b, Valérie Vermaeve^a, Esteban Martínez^b, Daniel Mataró^a, Mercè Durban^a, Montserrat Lonca^b, Ricard Vidal^{a,b} and José María Gatell^b

A study on in-vitro fertilization (IVF) was conducted among HIV-infected women. In these patients, a reduced pregnancy rate after IVF was observed if the patient's own oocytes were used. However, no significant reduction in the pregnancy rate was found if donated oocytes were used. The CD4 lymphocyte count was independently associated with ovarian resistance to hyperstimulation. Subclinical hypogonadism mediated by immunosuppression may explain these observations, suggesting the need to optimize the immunological status of the patient before considering assisted reproduction treatments.

The introduction of HAART has led to an almost negligible rate of mother-to-child transmission of HIV infection [1], and therefore an increasing number of HIV-infected women have decided to become pregnant. Some preliminary studies suggested that HIV-infected women may have a decreased fertility rate [2], and a higher frequency of menstruation disturbances associated with low CD4 cell counts [3] and upper genital tract infections [4]. In addition, severe ovarian dysfunction, such as premature ovarian failure or ovarian resistance to stimulation, has also been described [5,6].

Little is known about the outcome of in-vitro fertilization (IVF) in HIV-infected women. The results of a small study suggested low pregnancy rates in HIV-infected women after IVF [7], but matched controlled studies are lacking. We aimed to assess whether HIV-infected women have a lower IVF success rate than non-HIV-infected women.

From April 2000 to March 2004, a cohort consisting of 50 IVF cycles in 35 HIV-infected women (group 1), 50 age-matched cycles in 37 non-HIV-infected women with HIV-infected male partners (serodiscordant couples, group 2), and 100 age-matched cycles in 82 non-HIV-infected women with non-HIV-infected male partners (group 3) was prospectively followed. In all cases, IVF treatment was indicated and only fresh cycles were

Table 1. Pregnancy rate among the different study groups.

Cohort Study group Patient group	IVF			OD		
	1 HIV	2 SDC	3 Controls	4 HIV	5 SDC	6 Controls
Cycles (<i>n</i>)	50	50	100	25	16	75
Non-cancelled cycles (<i>n</i>)	37	40	80	25	16	75
Clinical pregnancy rate <i>n</i> (%)	6 (16.2) ^{a,b,c,d}	17 (42.5) ^a	30 (37.5) ^b	9 (36)	8 (50) ^c	33 (44) ^d

HIV, HIV-infected women; IVF, in-vitro fertilization; OD, oocyte donation; SDC, HIV-serodiscordant couples. Mantel-Haenszel χ^2 *P*: a = 0.013; b = 0.02; c = 0.01; d = 0.004.

analysed. In our institution HIV-serodiscordant couples were initially treated with intrauterine insemination, and only patients with a primary indication for IVF or after four failed intrauterine insemination attempts were allocated to undergo IVF. A parallel oocyte donation (OD) cohort consisting of 25 OD transfers in 20 HIV-infected women (group 4), 16 non-matched OD transfers in 14 HIV-serodiscordant couples (group 5) and 75 age-matched OD transfers performed in 68 non-HIV-infected couples (group 6) was also prospectively studied. Matching was performed by age (± 0.5 years) and the chronologically closest cycle was chosen. Ovarian stimulation, IVF procedures, the assessment of fertilization, embryo cleavage and establishment of pregnancy were performed according to standard procedures [8]. In all HIV-infected patients, the HIV plasma viral load and CD4 cell counts were measured at least within one month before reproductive treatment. Antiretroviral treatment was prescribed at the discretion of the treating physician according to updated Spanish guidelines [9].

In the IVF cohort, 43 out of 157 (21.5%) of the cycles were cancelled (Table 1). No differences were observed between cancelled and non-cancelled cycles regarding the baseline and IVF-related variables. There were no cancellations in the OD cohort. Table 1 shows the pregnancy rate among the study groups. HIV-infected women (compared with HIV-serodiscordant couples and controls) had a crude OR of 0.45 [95% confidence interval (CI) 0.23–0.85; Mantel-Haenszel χ^2 , *P* = 0.012] for clinical pregnancy in all non-cancelled cycles (IVF and OD). A stratified analysis for the type of antiretroviral therapy showed a 0.30 odds ratio (OR) (95% CI 0.11–0.78; Mantel-Haenszel χ^2 , *P* = 0.01) within the IVF cohort and a 0.68 OR (95% CI 0.27–1.71; Mantel-Haenszel χ^2 , *P* = 0.42) within the OD cohort, for clinical pregnancy.

Standard prognostic IVF-related variables did not differ significantly among the different IVF subgroups. Only follicle-stimulating hormone (FSH) required units (3721 ± 1218 for group 1, 3136 ± 1392 for group 2 and 3743 ± 19349 for group 3, one-way analysis of variance, *P* = 0.05) was significantly different between the study groups. Adjusting for maternal age, semen status, used ovarian suppression drug and technical

transfer difficulty, the OR for the occurrence of clinical pregnancy in HIV women versus controls was 0.37 (95% CI 0.13–0.99). The adjusted OR for HIV-serodiscordant couples versus controls was 1.23 (95% CI 0.55–2.8).

Regression analysis showed that from standard IVF variables only the FSH units required during ovarian stimulation added significant explicative value to the model. For an increase of 100 required FSH units, the OR for clinical pregnancy decreased by 0.97 (95% CI 0.95–0.99).

The logistic regression analysis in the HIV patients on IVF (group 1) showed that among all the HIV-related variables (CD4 cell count before inclusion, CD4 cell nadir, viral load, months from HIV diagnosis, and months on HAART) only the CD4 cell count before inclusion (adjusted OR 0.994; 95% CI 0.991–0.997; *P* = 0.043) had a significant effect on the occurrence of ovarian resistance.

The results of this study support the finding that HIV-infected women undergoing IVF have an adjusted lower pregnancy rate. In order to evaluate whether the reduction in pregnancy rate was caused by the maternal environment or oocyte exposure, either HIV infection or antiretroviral treatment, a parallel study was conducted among patients who required oocyte donation. The effect of HIV infection on the likelihood of clinical pregnancy remained significant only in those women on IVF but not after OD. As no effect of HIV infection in this group was observed, one can hypothesize that the absence of uterine or implantative differences may explain the adverse outcome. The further exposure to HIV or HAART at the time of implantation does not seem to have an initial deleterious effect.

Among HIV-infected patients treated with IVF, the usual reproductive outcome parameters failed to detect any underlying mechanism that could explain the lower pregnancy rate. It would appear that the oocyte of an HIV-infected women begins the IVF process with some further undetectable handicap.

Ovarian resistance to hyperstimulation may be involved in this effect because a greater number of units of

gonadotrophins were needed to stimulate these patients adequately. This resistance may reflect an underlying subclinical (normal menses) and subanalytical (comparable basal FSH values) hypogonadism, and superovulation may be considered as a functional stress test on the ovary.

The potential basis for this subclinical hypogonadism with altered oocyte quality is not readily evident. HIV should not have a direct impact on the human oocyte because no receptors for HIV have been described on either the cumulus cells or on the surface of the oocyte [10]. Neither do our results suggest any effect of viral load on the occurrence of ovarian resistance. A potential hypothesis might be mitochondrial dysfunction as a result of the use of antiretroviral drugs [11,12]. In our series, however, neither the type of treatment regimen used nor the total duration of HAART were associated with ovarian resistance.

^aClinica Eugén, and ^bHospital Clínic, IDIBAPS, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Received: 16 May 2005; revised: 17 June 2005; accepted: 24 June 2005.

References

1. European Collaborative Study. **Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy.** *Clin Infect Dis* 2005; **40**:458–465.
2. Stephenson JM, Griffioen A. **The effect of HIV diagnosis on reproductive experience.** Study Group for the Medical Research Council Collaborative Study of Women with HIV. *AIDS* 1996; **10**:1683–1687.
3. Hinz S, McCormack D, van der Spuy ZM. **Endocrine function in HIV-infected women.** *Gynecol Endocrinol* 2002; **16**: 33–38.
4. Sobel JD. **Gynecologic infections in human immunodeficiency virus-infected women.** *Clin Infect Dis* 2000; **31**:1225–1233.
5. Clark RA, Mulligan K, Stamenovic E, Chang B, Watts H, Andersen J, et al. **Frequency of anovulation and early menopause among women enrolled in selected adult AIDS clinical trials group studies.** *J Infect Dis* 2001; **184**:1325–1327.
6. Englert Y, Lesage B, Van Vooren JP, Lisnard C, Place J, Vannin AS, et al. **Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral diseases.** *Hum Reprod Update* 2004; **10**:149–162.
7. Ohl J, Partisani M, Wittemer C, Schmitt MP, Cranz C, Stoll-Keller F, et al. **Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience.** *Hum Reprod* 2003; **18**:1244–1249.
8. Joris H, Nagy Z, Van de Velde H, De Vos A, Van Steirteghem A. **Intracytoplasmic sperm injection: laboratory set-up and injection procedure.** *Hum Reprod* 1998; **13** (Suppl. 1): 76–86.
9. Miro JM, Antela A, Arrizabalaga J, Clotet B, Gatell JM, Guerra L, et al. **Recommendations of GESIDA (Grupo de Estudio de SIDA)/National Plan on AIDS with respect to the anti-retroviral treatment in adult patients infected with the human immunodeficiency virus in the year 2000 (II) [in Spanish].** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; **18**:396–412.
10. Baccetti B, Benedetto A, Collodel G, di Caro A, Garbuglia AR, Piomboni P. **The debate on the presence of HIV-1 in human gametes.** *J Reprod Immunol* 1998; **41**:41–67.
11. Brinkman K, ter Hofstede HJ, Burger DM, Smeitink JA, Koopmans PP. **Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: mitochondrial toxicity as common pathway.** *AIDS* 1998; **12**:1735–1744.
12. de Mendoza C, Sanchez-Conde M, Ribera E, Domingo P, Soriano V. **Could mitochondrial DNA quantitation be a surrogate marker for drug mitochondrial toxicity?** *AIDS Rev* 2004; **6**:169–180.

Heterosexual anal intercourse increases risk of HIV infection among young South African men

Tim Lane^a, Audrey Pettifor^b, Sophie Pascoe^c, Agnes Fiamma^d and Helen Rees^e

Data from a nationally representative household survey of South African youth aged 15–24 years found that sexually active men reporting anal intercourse were nearly twice as likely to be HIV infected as men reporting only vaginal sex (OR 1.7, 95% CI 1.0–3.0). The associated risk was more pronounced among men aged 15–19 years (OR 4.3, 95% CI 1.5–12.1). The association among women was not significant (OR 1.2, 95% CI 0.7–2.0).

The association between heterosexual anal intercourse and HIV infection is not well studied, despite the understanding that anal intercourse is a high-risk behavior [1–3]. No study has assessed the prevalence of heterosexual anal intercourse and its association with HIV infection in a sub-Saharan African population, largely as a result of the belief that anal sex is not widely practised in this region [4]. In a high-prevalence epidemic in which heterosexual intercourse is presumed to be the primary route of HIV infection, such as exists in sub-Saharan Africa, it is possible that epidemiological studies and HIV prevention programmes are overlooking a potentially significant pathway of HIV transmission. Studies of heterosexual anal sex in other populations have determined that heterosexual individuals are less likely to use condoms for anal sex than for vaginal sex, and are less likely than men who have sex with men to use condoms for anal sex [1]. In the absence of any specific evidence, it seems reasonable to assume that Africans who engage in heterosexual anal intercourse would be similarly disinclined to use condoms.

The South African National Youth Survey (NYS), conducted by the Reproductive Health and HIV Research Unit at the University of the Witwatersrand, Johannesburg, provided an opportunity to estimate the prevalence of anal intercourse among South African youth and explore its association with HIV infection in this population. The NYS was a nationally representative household survey of 11 904 South Africans aged 15–24 years, conducted between March and August 2003. Participants answered survey questions about sexual risk behaviors, attitudes and norms around HIV/AIDS, and the awareness of and exposure to loveLife, a national youth HIV prevention campaign. Survey participants provided an oral fluid sample for HIV testing. All results were adjusted for the survey sampling design. HIV

Publicació 4: **Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral-treated infertile women.**

Sònia López, Oriol Coll, Mercè Durban, Sandra Hernández, Ricard Vidal, **Anna Suy**, Constanza Morén, Jordi Casademont, Francesc Cardellach, Danel Mataró, Oscar Miró, Glòria Garrabou. *Antiviral Therapy* 2008;18:833-838. **(IF: 4,547)**

Original article

Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral-treated infertile women

Sònia López^{1,2}, Oriol Coll³, Mercè Durban³, Sandra Hernández³, Ricard Vidal³, Anna Suy³, Constanza Morén^{1,2}, Jordi Casademont^{1,2}, Francesc Cardellach^{1,2}, Daniel Mataró³, Òscar Miró^{1,2*} and Glòria Garrabou^{1,2}

¹Mitochondrial Research Laboratory, Internal Medicine Department, IDIBAPS, Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

²CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Barcelona, Spain

³Unit of Assisted Reproduction, Clínica Eugén, Barcelona, Spain

*Corresponding author: E-mail: omiro@clinic.ub.es

Background: HIV-infected women under highly active antiretroviral therapy (HAART) undergoing *in vitro* fertilization (IVF) have a lower pregnancy rate than non-infected controls, which depends on oocyte-related factors. We hypothesized that mitochondrial toxicity caused by antiretrovirals could be the underlying mechanism of such disturbance.

Methods: We have studied 16 and 19 frozen-thawed oocytes obtained after oocyte retrieval IVF cycles from 8 and 14 infertile HIV-infected and uninfected women, respectively, matched by age. At inclusion, HIV-positive women had been infected for >13 years and had received HAART for >9 years, including at least one nucleoside reverse transcriptase inhibitor. All of them had undetectable HIV viral load and a good immunological status.

Mitochondrial DNA (mtDNA) content was determined by quantitative real-time PCR in each individual oocyte.

Results: HIV-infected infertile women on HAART showed significant oocyte mtDNA depletion when compared with uninfected controls (32% mtDNA decrease, $P < 0.05$). This oocyte mtDNA depletion was even greater on those HIV-infected women who failed to become pregnant when compared with controls (39% mtDNA decrease, $P = 0.03$). No significant correlation was found between mtDNA oocyte content and cumulative doses of antiretrovirals or the immunological status of HIV patients.

Conclusions: Oocytes from infertile HIV-infected HAART-treated women show decreased mtDNA content, and this could explain their poor reproductive outcome.

Introduction

The ability of highly active antiretroviral therapy (HAART) to decrease viral load to undetectable levels and to increase CD4⁺ T-lymphocyte levels has drastically reduced mortality and morbidity among HIV-infected patients [1,2]. As a consequence, HIV infection has become a chronic disease.

Many adverse effects have been described and associated with long-term use of antiretrovirals. Most of them (miopathy, lipoatrophy, lactic acidosis, polyneuropathy or pancreatitis) have been related to mitochondrial toxicity caused by nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) [3-7].

The main underlying mechanism described for mitochondrial toxicity is the ability of NRTIs to inhibit mitochondrial DNA (mtDNA) synthesis both by direct inhibition of the human DNA polymerase- γ (the only polymerase responsible for mtDNA replication) and

by acting as chain terminators of the growing DNA strand. Consequently, NRTIs lead to the generation of abnormal mitochondria, with decreased numbers of mtDNA molecules per organelle (depletion), as well as an increase of mutations (deletions and/or point mutations) in the mtDNA genome [8-11]. mtDNA is a 16.6 kb double-stranded molecule that only encodes for 13 proteins of the mitochondrial respiratory chain associated with the oxidative phosphorylation process, two mitochondrial ribosomal RNA and 22 mitochondrial transfer RNA. In this context, a depletion of the mtDNA levels could lead to mitochondrial dysfunction and energetic cell impairment.

According to epidemiological data, HIV-infected women have a lower spontaneous fertility rate than uninfected women [12-14]. Recently, we reported the same observation when these women underwent *in vitro*

fertilization (IVF) with their own oocytes. Furthermore, no significant reduction in the pregnancy rate was found when healthy donated oocytes were used. These results suggest that the reduced pregnancy rate observed among HIV-infected women on HAART could be attributed to the oocyte [15]. Although the underlying mechanism of this decreased fertility is unknown, it has been shown that sufficient energy production from mitochondria seems to be relevant in oocyte viability and in the development of embryos. Any mitochondrial defect in oocytes could eventually lead to cell dysfunction and infertility. In this sense, it is important to note that, *a priori*, the toxic effects of NRTIs can affect any cell containing mitochondria because they have not been specifically designed to enter a particular cellular type and that oocytes are post-mitotic cells with no ability to remove damaged mtDNA. We hypothesized that mtDNA content would be depleted in oocytes of infertile HIV-infected women under HAART treatment.

Methods

A total of eight HIV-infected women all undergoing HAART treatment and 14 controls (non-infected women) undergoing IVF for infertility treatment at Clinica Eugén (Barcelona, Spain), matched by age and IVF indication, were included. All women provided informed consent to participate in the study. The duration and number of previous ART cycles, and total dose of follicle stimulating hormone (FSH) for ovarian hyperstimulation, were similar in both groups.

A total of 16 non-suitable oocytes from eight HIV-infected women and 19 non-suitable oocytes from 14 HIV-negative women were obtained after ovarian hyperstimulation performed using recombinant FSH or human menopausal gonadotropin. Hypophysary suppression was obtained using either gonadotropin-releasing hormone agonists or antagonists in a short stimulation protocol. Oocytes were recovered 36 h after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin hormone.

During an IVF cycle, a proportion of the retrieved oocytes are immature, either during metaphase I (MI; absence of both a germinal vesicle and a first polar body) or at the germinal vesicle stage. On day 1 after sperm insemination, a proportion of metaphase II (mature) oocytes are non-fertilized (NF). These types of oocytes are defined as unsuitable for assisted reproduction. Therefore, this study did not limit the likelihood of achieving a pregnancy. All women from both groups had viable embryos, which were transferred.

Human oocytes can only be assessed during an IVF cycle. Given that mature oocytes are obtained for fertility purposes, the assessment of non-suitable oocytes and NF oocytes from the same cycle from both infected and

uninfected women is the best model available, although it has some limitations. Nevertheless, this is currently the only ethically acceptable approach.

Oocytes were obtained after a standard IVF cycle (by the use of hormonal-stimulated polioovulation and ultrasound-guided oocyte retrieval) and treated with hyaluronidase to remove cumulus cells. Mature oocytes were inseminated by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and observation of non-fertilization was performed on day 1 (18–20 h after ICSI). Selected oocytes were individually rinsed in 0.5 ml of PBS 1× (phosphate-buffered saline solution without Ca^{2+} and Mg^{2+} ; Dulbecco's, Irvine-Scientific, Santa Ana, CA, USA) and placed into a DNase/RNase-free cryotube that was frozen in liquid nitrogen.

DNA isolation and mtDNA quantification

Lysis of each individual oocyte was done in the appropriate buffer containing 125 μl of proteinase K solution (2 mg/ml proteinase K; Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany; SDS 1% and 2mM EDTA pH 8.0), 50 μl of SDS 10% and 750 μl of lysis solution (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 400 mM NaCl, 2 mM EDTA pH 8.0) and incubated for 60 min at 55°C and for 10 min at 100°C. After lysis, we added to each sample 1 μl of pellet paint (Pellet Paint® Co-Precipitant, Novagen, Merck KgaA, Darmstadt, Germany) and 10 μg of glycogen (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) as carriers. Total DNA from each sample was isolated by standard phenol-chloroform procedures adapted to microvolumes (1 volume DNA solution:1 volume phenol:chloroform:isoamyl alcohol 25:24:1; Sigma-Aldrich, Inc., St Louis, MO, USA) and then precipitated with 0.1 volumes of 3 M sodium acetate pH 5.3 and 2.5 volumes of absolute ethanol previously kept at -20°C. The pellet of DNA was dissolved in 40 μl of TE 10:1 buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA pH 7.5) and homogenized at 37°C for 2 h. For each DNA extract, the highly conserved mitochondrial ND2 gene levels were measured by quantitative real-time PCR (LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I; Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) in duplicate using the sequences of the primers and the conditions of the PCR reaction previously reported [16]. The results for the mtDNA content were expressed as picograms (pg) of the ND2 gene. The mtDNA content of controls was considered to be 100%.

Statistical analysis

Clinical and epidemiological characteristics of all women included in the study were expressed as means \pm SD (quantitative data) and percentages (qualitative data). One-way ANOVA was used to detect significant differences between groups. When ANOVA was significant and comparisons

included three groups, we used the Bonferroni post-hoc analysis to detect which pair of groups showed significant differences. Linear regression analysis was performed to establish any association among mtDNA content and cumulated doses of antiretrovirals or immunovirological parameters. In all cases, P -values <0.05 were considered statistically significant.

Results

Clinical and epidemiological characteristics of HIV-positive infertile women and controls included in the study are detailed in Table 1. The mean \pm SD age was 36 ± 2 years in the HIV group and 37 ± 4 years in the control group. At the time of the IVF cycle, all HIV-infected women had undetectable HIV viral load and a good immunological status. The mean time after HIV diagnosis was >13 years (153 ± 57 months). All patients were on HAART (mean duration 101 ± 58 months), which included NRTIs in all cases. Infertile HIV-infected women on HAART had 32% lower oocyte mtDNA content than infertile controls (92 ± 51 versus 136 ± 71 pg, respectively, $P < 0.05$; Figure 1A).

When mtDNA content was analysed and stratified by the type of oocytes (MI or NF), differences between infected and uninfected women were no longer statistically significant. Nevertheless, as shown in Figure 1B, a consistent trend persisted in the two types of oocytes of infected patients, with 27% depletion for MI oocytes and 36% depletion for NF oocytes when compared with controls (94 ± 52 versus 129 ± 64 pg for MI oocytes; $P = 0.24$ and 90 ± 53 versus 140 ± 77 for NF oocytes; $P = 0.15$). Lack of statistical differences could be attributable to the small number of oocytes analysed in each subgroup.

Levels of mtDNA were evaluated according to pregnancy outcome of the same IVF cycle. Pregnancy

was established if at least one intrauterine sac was revealed by ultrasonography approximately 5 weeks after embryo transfer.

Pregnancy rate per cycle was 25% (4 out of a total of 16 oocytes) among infertile HIV-infected women on HAART and 37% (7 out of a total of 19 oocytes) in the control group. Among HIV-infected women, oocytes from a non-pregnancy had 30% depletion of the mtDNA content when compared with oocytes from a pregnancy cycle ($n = 12$, 83 ± 48 versus $n = 4$, 119 ± 57 pg, respectively; $P = 0.237$). When compared with the control group ($n = 19$, 100%), oocytes from a non-pregnancy ($n = 12$) showed a 39% decrease in mtDNA levels ($P = 0.03$), whereas oocytes from a pregnancy cycle ($n = 4$) only showed a 13% decrease in mtDNA content ($P = 0.653$). In addition, when comparing oocytes from a non-pregnancy from HIV-infected women with those of uninfected controls, the former showed a 48% decrease in mtDNA (83 ± 48 versus 161 ± 70 pg, respectively, $P = 0.004$; Figure 2A). However, no differences were found when comparing HIV-positive and HIV-negative oocytes from a successful pregnancy (119 ± 57 versus 94 ± 53 pg, respectively; $P = 0.4$; Figure 2B).

No significant correlation was found between oocytes mtDNA content and cumulated antiretroviral doses or the immunovirological status of HIV-patients (data not shown).

Discussion

The oocyte is the largest human cell (300 \times bigger on average than other somatic cells) and contains a large amount of mitochondria that represent at least 23% of the ooplasm [17].

Mitochondria are double-membrane intracellular organelles and the main source of the high-energy phosphate molecule adenosine triphosphate, which is essential for all active intracellular processes [18]. Oocytes are packed with mitochondria, and disorders of mitochondrial function could cause reproductive failure. mtDNA copy number per mature human oocyte is about 100,000–600,000 molecules compared with 500–10,000 molecules for somatic cells [19,20]. Furthermore, the oocyte contains approximately one mtDNA molecule per mitochondrion to avoid heteroplasmic segregation through the maternal lineage [21] and differs from the 2–10 mtDNA copies in human somatic mitochondria [17]. This fact makes oocyte mitochondria especially vulnerable to mtDNA depletion and oocyte especially sensitive to mtDNA depleting factors (drugs, toxins and infections).

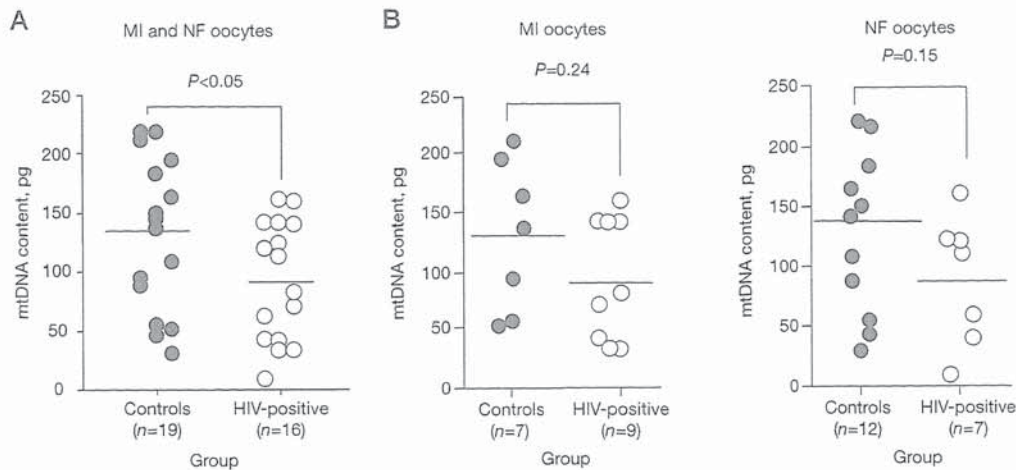
Mitochondrial dysfunction has been associated with reproductive outcome because their functionalism influences the viability of both sperm and oocytes. Accordingly, low mtDNA content in both male [22]

Table 1. Clinical and epidemiological characteristics of infertile women included in the study

Characteristic	Cases	Controls
Patients, n	8	14
Mean age, years (\pm SD)	36 (2)	37 (4)
CD4 ⁺ T-lymphocytes, cells/mm ³ (\pm SD)	781 (298)	-
Viral load <200 copies/ml, %	100	-
Mean duration from HIV diagnosis, months (\pm SD)	153 (57)	-
Mean duration on HAART, months (\pm SD)	101 (58)	-
Mean duration on NRTIs, months (\pm SD)	100 (59)	-
Patients on NRTIs at time of IVF, %	100	-
Total oocytes analysed, n	16	19

HAART, highly active antiretroviral therapy; IVF, *in vitro* fertilization; NRTI, nucleoside reverse transcriptase inhibitor.

Figure 1. Oocyte mitochondrial DNA content for HIV-treated women and uninfected controls



Oocyte mitochondrial DNA (mtDNA) content, expressed as picograms (pg) of the ND2 gene, for controls (uninfected women) and HIV-positive women (A) when both metaphase I (MI) and non-fertilized (NF) oocytes were analysed together and (B) when analysed according to the type of oocyte (MI or NF).

and female gametes [17,23,24] has been associated with infertility. Mutations in the mtDNA genome have also been described in spermatozoa with declined motility and fertility [25]. Other investigations relate the generation of abnormal sperm mtDNA molecules (with multiple mtDNA deletions) to long-term antiretroviral intake in HIV-infected patients [26]. Moreover, it has been suggested that HIV infection and NRTIs have negative effects on semen parameters (semen volume, percentage of progressive motile spermatozoa, total sperm count, polynuclear cell count, pH and spermatozoa anomalies), compromising male fertility.

In the oocyte, mitochondria contribute to fertilization and embryonic development. Cohen *et al.* [27] reported that ooplasm transfer (including mitochondria) from a young donor oocyte partially restores the reproductive capacity in oopausal oocytes. Both Reynier *et al.* [23] and Santos *et al.* [17] established an association between mtDNA content and the probability of oocyte fertilization. The latter suggested that the mtDNA content could be an oocyte quality and fertility marker. Another study suggested that low mtDNA content was associated with impaired oocyte quality observed in ovarian insufficiency [24]. These studies suggest that mitochondria are crucial to fertilization outcome and embryonic development [27]. Nevertheless, there are no published studies assessing mtDNA levels in oocytes of HIV-infected women.

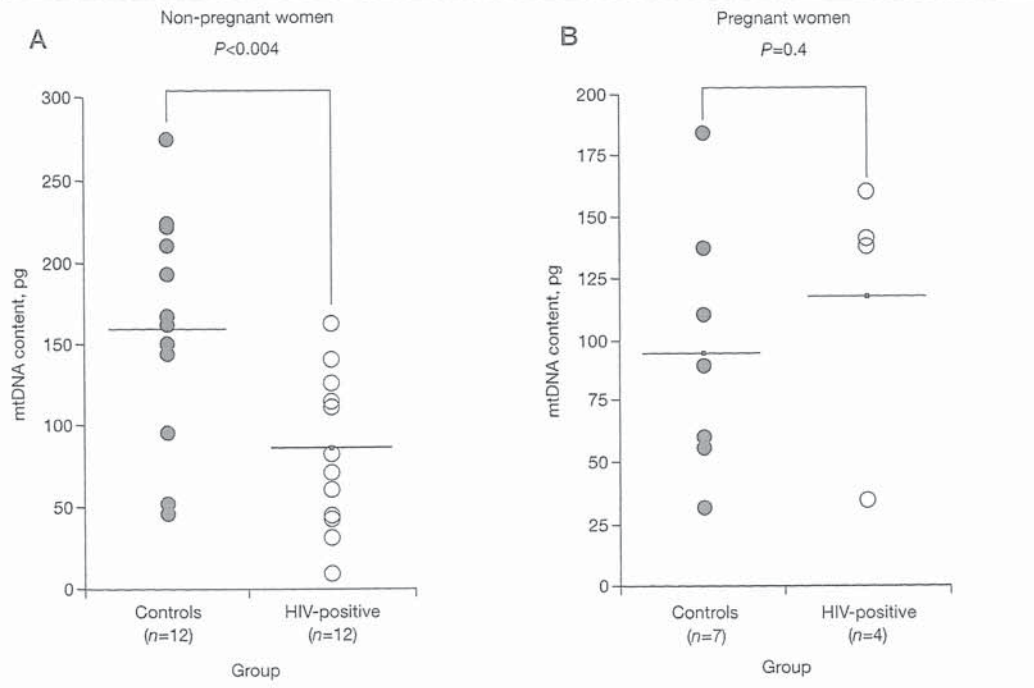
Epidemiological and clinical data suggest that HIV-infected women have a lower spontaneous pregnancy rate. We recently demonstrated that infertile HIV-

infected women on HAART undergoing IVF had lower pregnancy rates than uninfected women (16.2 versus 39.2%) [15]. However, the effect of HIV infection was not observed in women undergoing oocyte donation (36 versus 45.1%).

This is the first study to address the underlying mechanism that could explain a low pregnancy rate in HIV-infected women. Our data suggest that oocytes from infertile HIV-infected women on HAART have decreased mtDNA levels compared with infertile uninfected controls.

Two possible mechanisms could explain the mtDNA depletion found in our study. One of them is related to the secondary effects of antiretrovirals and oocyte characteristics. HAART combinations to treat HIV, specifically those containing NRTIs, could cause mitochondrial toxicity. Any cell that contains mitochondria is susceptible to the toxic effects of NRTIs. Therefore, oocytes might be exposed to cumulated therapeutic doses of these drugs. Oocytes are post-mitotic cells with no ability to eliminate damaged mitochondria and with a high dependence on the oxidative phosphorylation system. Moreover, because oocytes contain a large number of mitochondria with only one molecule of mtDNA per organelle, they are more sensitive to mtDNA depleting factors. In this scenario, oocytes would be especially prone to decrease the mtDNA levels. On the other hand, HIV might induce unspecific mitochondrial damage in other tissues and cause disruption of the mitochondria-mediated apoptotic mechanisms, thereby indirectly depleting oocyte mtDNA levels [28]. We did not find

Figure 2. Oocyte mitochondrial DNA content for HIV-treated women and uninfected controls according to the pregnancy outcome



Oocyte mitochondrial DNA (mtDNA) content, expressed as picograms (pg) of the ND2 gene, for controls (uninfected women) and HIV-positive women according to the pregnancy outcome of the same *in vitro* fertilization (IVF) cycle. (A) Oocyte mtDNA content analysed in non-pregnant women. (B) Oocyte mtDNA content analysed in pregnant women.

an association between mtDNA content and the length of antiretroviral therapy and immunovirological status of patients. Therefore, we cannot further demonstrate the contribution of each mechanism. However, we believe that HIV should not have a direct effect on the human oocyte because no receptors for HIV have been described on either the cumulus cells or on the surface of the oocyte.

According to the abovementioned factors, the most plausible hypothesis is that the underlying mechanism that causes oocyte mtDNA depletion and reduced fertility among HIV-infected women on HAART is the antiretroviral therapy. However, we are not able to give a firm conclusion because all HIV-infected women included in our study were on HAART. In this context, it is not possible to determine whether these results are attributable to HIV-infection or to HAART. No data are available on mtDNA content of oocytes from HIV-infected non-HAART-treated women.

Interestingly, among HIV-infected women, mtDNA content in the non-viable oocytes from women that did not become pregnant was lower than that among women who achieved a pregnancy, although differences were

not significant (83 ± 48 versus 119 ± 57 pg, respectively, $P=0.237$). However, this mtDNA depletion was significant when comparing HIV-infected women who did not become pregnant with uninfected controls (39% depletion, $P=0.03$). Lack of statistical significance for the first comparison could be attributed to the small number of patients in the subgroups analysed. These results could explain the low pregnancy rate after IVF observed among HIV-infected women.

According to our results, the lower fertility rate observed in IVF cycles among HIV-infected women under antiretroviral therapy might be explained by oocyte mitochondrial impairment that is secondary to mitochondrial toxicity by HAART. However, we cannot rule out the potential effects that HIV could indirectly have on fertilization outcome and on mtDNA content through other unknown biological causes. Further studies are required to investigate this issue.

Acknowledgements

We are indebted to all women who have participated in the study. This study has been supported by grants from

Fundació La Marató de TV3 (020210 and 020631), Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS 40381/04), Suport a Grups de Recerca de la Generalitat de Catalunya (2005/SGR/0300) and CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER). CIBERER is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III.

Disclosure statement

The authors declare no competing interests.

References

- Delta Coordinating Committee. Delta: a randomized double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals. *Lancet* 1996; 348:283–291.
- Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, et al. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team. *N Engl J Med* 1996; 335:1081–1090.
- Lewis W, Dalakas MC. Mitochondrial toxicity of antiviral drugs. *Nat Med* 1995; 1:417–422.
- Cherry CL, Wesselingh SL. Nucleoside analogues and HIV: the combined cost to mitochondria. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51:1091–1093.
- Brinkman K, ter Hofstede HJ, Burger DM, Smeitink JA, Koopmans PP. Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: mitochondrial toxicity as common pathway. *AIDS* 1998; 12:1735–1744.
- Lim SE, Copeland WC. Differential incorporation and removal of antiviral deoxynucleotides by human DNA polymerase γ . *J Biol Chem* 2001; 276:23616–23623.
- Carr A, Cooper DA. Adverse effects of antiretroviral therapy. *Lancet* 2000; 356:1423–1430.
- Maagaard A, Holberg-Petersen M, Kollberg G, Oldfors A, Sandvik L, Bruun JN. Mitochondrial (mt)DNA changes in tissue may not be reflected by depletion of mtDNA in peripheral blood mononuclear cells in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2006; 11:601–608.
- Martin AM, Hammond E, Nolan D, et al. Accumulation of mitochondrial DNA mutations in human immunodeficiency virus-infected patients treated with nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors. *Am J Hum Genet* 2003; 72:549–560.
- Zaera MG, Miró O, Pedrol E, et al. Mitochondrial involvement in antiretroviral therapy-related lipodystrophy. *AIDS* 2001; 15:1643–1651.
- Miró O, Gómez M, Pedrol E, Cardellach F, Nunes V, Casademont J. Respiratory chain dysfunction associated with multiple mitochondrial DNA deletions in antiretroviral therapy-related lipodystrophy. *AIDS* 2000; 14:1855–1857.
- Stephenson JM, Griffioen A. The effect of HIV diagnosis on reproductive experience. Study Group for the Medical Research Council Collaborative Study of Women with HIV. *AIDS* 1996; 10:1683–1687.
- Sedgh G, Larsen U, Spiegelman D, Msamanga G, Fawzi WW. HIV-1 disease progression and fertility in Dar es Salaam, Tanzania. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 39:439–445.
- Gray GE, McIntyre JA. Effect of HIV on women. *AIDS Read* 2006; 16:365–368, 373–377.
- Coll O, Suy A, Figueras F, et al. Decreased pregnancy rate after *in vitro* fertilization in HIV-infected women receiving HAART. *AIDS* 2006; 20:121–123.
- Lopez S, Miro O, Martinez E, et al. Mitochondrial effects of antiretroviral therapies in asymptomatic patients. *Antivir Ther* 2004; 9:47–55.
- Santos TA, El Shourbagy S, St John JC. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. *Fertil Steril* 2006; 85:584–591.
- Chinnery PF, DiMauro S. Mitochondrial hepatopathies. *J Hepatol* 2005; 43:207–209.
- Jacobs LJ, de Wert G, Geraedts JP, de Coo IF, Smeets HJ. The transmission of OXPHOS disease and methods to prevent this. *Hum Reprod Update* 2006; 12:119–136.
- Shoubridge EA, Wai T. Mitochondrial DNA and the mammalian oocyte. *Curr Top Dev Biol* 2007; 77:87–111.
- Marchington DR, Macaulay V, Hartshorne GM, Barlow D, Poulton J. Evidence from human oocytes for a genetic bottleneck in a mtDNA disease. *Am J Hum Genet* 1998; 63:769–775.
- Kao SH, Chao HT, Liu HW, Liao TL, Wei YH. Sperm mitochondrial DNA depletion in men with asthenospermia. *Fertil Steril* 2004; 82:66–73.
- Reynier P, May-Panloup P, Chretien MF, et al. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol Hum Reprod* 2001; 7:425–429.
- May-Panloup P, Chretien MF, Jacques C, Vasseur C, Malthiery Y, Reynier P. Low oocyte mitochondrial DNA content in ovarian insufficiency. *Hum Reprod* 2005; 20:593–597.
- Kao SH, Chao HT, Wei YH. Multiple deletions of mitochondrial DNA are associated with the decline of motility and fertility of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 1998; 4:657–666.
- White DJ, Mital D, Taylor S, St John JC. Sperm mitochondrial DNA deletions as a consequence of long term highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001; 15:1061–1062.
- Cohen J, Scott R, Schimmel T, Levron J, Willadsen S. Birth of infant after transfer of anucleate donor oocyte cytoplasm into recipient eggs. *Lancet* 1997; 350:186–187.
- Miro O, Lopez S, Martinez E, et al. Mitochondrial effects of HIV infection on the peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients who were never treated with antiretrovirals. *Clin Infect Dis* 2004; 39:710–716.

Accepted for publication 27 June 2008

Publicació 5: Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy

Anna Suy, Esteban Martínez, Oriol Coll, Montserrat Lonca, Montserrat Palacio, Elisa de Lazzari, María Larrousse, Ana Milinkovic, Sandra Hernández, José L. Blanco, Josep Mallolas, Agathe León, Juan A. Vanrell and José M. Gatell. AIDS 2006;20:59–66. (IF:5,46)

Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy

Anna Suy^a, Esteban Martínez^b, Oriol Coll^a, Montserrat Lonca^b,
Montserrat Palacio^a, Elisa de Lazzari^b, María Larrousse^b,
Ana Milinkovic^b, Sandra Hernández^a, José L. Blanco^b, Josep Mallolas^b,
Agathe León^b, Juan A. Vanrell^a and José M. Gatell^{b,*}

Background: Pre-eclampsia and/or fetal death have increased sharply in HIV-infected pregnant women receiving HAART.

Methods: The occurrence of pre-eclampsia or fetal death was analysed in women who delivered after at least 22 weeks of gestation for all women (January 2001 until July 2003) and for HIV-infected women (November 1985 until July 2003).

Results: In 2001, 2002 and 2003, the rates per 1000 deliveries of pre-eclampsia and fetal death, respectively, remained stable in all pregnant women at 25.4, 31.9 and 27.7 ($P = 0.48$) and 4.8, 5.8, and 5.0 ($P = 0.89$) ($n = 8768$). In 1985–2000 ($n = 390$) to 2001–2003 ($n = 82$), rates per 1000 deliveries in HIV-infected women rose from 0.0 to 109.8 ($P < 0.001$) for pre-eclampsia and from 7.7 to 61.0 ($P < 0.001$) for fetal death. In all pregnant women, factors associated with pre-eclampsia or fetal death were multiple gestation [adjusted odds ratio (OR) 3.6; 95% confidence interval (CI), 2.3–5.6; $P < 0.001$], HIV infection (adjusted OR, 4.9; 95% CI, 2.4–10.1; $P < 0.001$), multiparity (adjusted OR, 0.76; 95% CI, 0.58–0.98; $P = 0.040$) and tobacco smoking (adjusted OR, 0.65; 95% CI, 0.46–0.90; $P = 0.010$). The use of HAART prior to pregnancy (adjusted OR, 5.6; 95% CI, 1.7–18.1; $P = 0.004$) and tobacco smoking (adjusted OR, 0.183; 95% CI, 0.054–0.627; $P = 0.007$) were risk factors in HIV-infected women.

Conclusions: HIV infection treated with HAART prior to pregnancy was associated with a significantly higher risk for pre-eclampsia and fetal death.

© 2006 Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2006, **20**:59–66

Introduction

Increasing clinical expertise and routine use of HAART have led to a dramatic and sustained decrease in mortality and morbidity in HIV infection [1,2] as well as in the risk of mother-to-child transmission [3]. In this scenario, it is not surprising that fertile HIV-infected women may decide to become pregnant expecting an offspring free of HIV infection and no more complications during

pregnancy than in non-HIV-infected women. HIV-infected pregnant women are currently recommended to receive similar HAART regimens as non-pregnant ones, except for considerations of potential adverse effects of such therapy on the fetus [4].

Despite the positive impact on HIV-related morbidity and mortality, the duration of exposure to antiretroviral therapy has been associated with long-term complications

From the ^aObstetric and Gynecological Service, and the ^bInfectious Diseases Service, Hospital Clinic of the Institute of Biomedical Investigations, August Pi i Sunyer Hospital, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Correspondence to Dr E. Martínez, Serveis de Malalties Infeccioses, Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona, Spain.

E-mail: esteban@fundorsoriano.es.

* See the Appendix for other authors.

Received: 1 February 2005; revised: 10 February 2005; accepted: 2 March 2005.

such as lipodystrophy [5] and cardiovascular disease [6]. Outcomes and adverse effects of antiretroviral therapy in HIV-infected pregnant women have mainly focused on the fetus and the infant, rarely on the mother [7]. Fetal adverse outcomes such as preterm birth, low birth weight, intrauterine growth retardation and fetal death are more common in untreated HIV-infected women than in women without HIV infection and correlate with the stage of HIV disease in mothers from developing countries. However, many of these data from developed countries have not demonstrated an association between HIV infection and adverse outcomes when compared with appropriate control groups [8,9]. With the widespread prescription of HAART, fetal adverse outcomes, with the exception of preterm birth, have been reported to occur at similar rates to those seen in the general population [10,11].

Pre-eclampsia was an uncommon complication of pregnancy in HIV-infected women in the pre-HAART era, even less frequent than in the general population [12]. With the routine use of HAART, the reported incidence of pre-eclampsia in HIV-infected pregnant women has increased to a level at least similar to that of HIV-uninfected women [13]. Moreover, a recent survey of 36 hospitals from 11 European countries has identified pre-eclampsia as the most common adverse event in HIV-infected pregnant women receiving antiretroviral therapy, followed by congenital abnormalities and fetal death [14]. We have recently detected an unexpected increase in the number of cases of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving HAART and in the co-occurrence of both [15]. Among other factors, pre-eclampsia has been associated with hyperinsulinaemia [16] and increased serum selectins [17], which are markers of insulin resistance and endothelial inflammation, respectively.

This study analyses the incidence and the risk factors for pre-eclampsia, fetal death or both in all pregnant women and in HIV-infected pregnant women who delivered at our institution. Insulin and P- and E-selectin in stored plasma samples from HIV-infected patients with and without pre-eclampsia were also measured to assess the potential role of insulin resistance or endothelial inflammation in the development of pre-eclampsia in HIV-infected pregnant women.

Methods

Population

The Institution of Biomedical Investigations is a referral centre offering public medical care to pregnant women in an urban area comprising the city and metropolitan area of Barcelona (Spain). Starting on January 2001, a perinatal database was prospectively created to include all

consecutive pregnant women cared for at the centre. A similar but more specific database had been in use since November 1985 for HIV-infected pregnant women and included additional variables on HIV infection, AIDS-related illnesses, and antiretroviral therapy. Since 1992, data from the HIV-infected pregnant women were reported to the European Collaborative Study. Only women delivering after at least 22 weeks of pregnancy were considered for this study. For the purpose of the study, the cut-off date for inclusion was July 2003.

Analyses

Every pregnant woman received standard medical care and had their blood cells and chemistry measured every trimester. Routine screening for HIV in every pregnant woman with unknown HIV serostatus was carried out from July 1990; prior to this date, screening was restricted to women at known risk for HIV. Additional standard care was provided for women with other health conditions. HIV-infected women were informed about their pregnancy care, the risk of vertical transmission and the known antiretroviral toxicity for the mother and the newborn. Any individual decision to discontinue pregnancy complied with Spanish laws. Besides standard blood tests, CD4 cell count (flow cytometry) and plasma HIV-1 RNA (Amplicor HIV Monitor, Roche Diagnostic Systems, Branchburg, New Jersey, USA) were also measured for HIV-infected individuals at least every 3 months. Whenever available, antiretroviral therapy was administered to all pregnant HIV-infected women following the recommendations at the time of pregnancy. For HIV-infected women, a sample of the plasma obtained for routine blood tests was kept at -80°C for further non-scheduled laboratory assessments.

A case-control substudy measured insulin (IRMA, Med-Genix Diagnostics, Fleunes, Belgium), and P- and E-selectin (R & D System, Minneapolis, Minnesota, USA) on stored plasma samples. The samples used were those closest (less than 3 months) to the estimated date of conception, during pregnancy, and in the puerperium for HIV-infected pregnant women who developed pre-eclampsia and at similar time-points for randomly selected HIV-infected pregnant women who did not develop pre-eclampsia. Because the volume of stored samples was scarce, insulin could only be measured during pregnancy.

Definitions

The date of conception was estimated according to the last menstrual period or by sonographic evaluation [18]. Pre-eclampsia was defined as new onset of hypertension, with two readings at least 6 h apart of more than 140 mmHg systolic or more than 90 mmHg diastolic during gestation, delivery or immediate postpartum period, plus a dipstick reading of at least 1+ for proteinuria (0.1 g/l) confirmed by > 300 mg/24 h urine collection after 22 weeks of pregnancy [19]. Fetal death

was an intrauterine death after 22 weeks of pregnancy [20]. The perinatal mortality hospital committee, which included obstetricians, pediatricians and pathologists, reviewed all fetal demise. Fetal necropsy and caryotype were routinely carried out.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with Stata software version 7.0 (Stata Corp., College Station, Texas, USA). Incidence was calculated as the number of new events per 1000 deliveries (including also fetal deaths). The odds of pre-eclampsia, fetal death, or either pre-eclampsia or fetal death in the general and in the HIV-infected population at different time-points were compared using χ^2 -squared test for linear trend.

The risks were estimated with multivariate analyses through logistic regression models in both populations. Variables considered for the analysis of risk factors in the general population included race, age, tobacco smoking, intravenous drug use, number of prior deliveries, number of fetuses in current pregnancy, and HIV serostatus. In the HIV-infected population, additional variables for the analysis of risk factors were known duration of HIV

infection, antiretroviral therapy prior to and during pregnancy, duration of exposure to individual antiretroviral drugs, and CD4 and CD8 cell counts immediately prior to or at the time of pregnancy, depending when HIV infection was diagnosed. Multivariate models were constructed through stepwise selection of those variables showing a univariate *P* value < 0.1. A significance level of 95% was considered in all the statistical procedures.

Insulin, and P- and E-selectin measurements in the case-control substudy were compared with the Mann-Whitney test. Simple comparisons used a two-sided α level of 0.05.

Results

Pre-eclampsia and fetal death in the general population

From January 2001 until July 2003, 8768 pregnant women were included, of whom 82 (0.9%) were HIV infected (Table 1). There were 244 (28 per 1000) cases of pre-eclampsia without fetal death, 39 (4 per 1000) cases of

Table 1. Characteristics of the general population of women and the population of HIV-infected women studied.

Variable	General population ^a	HIV-infected ^b
Total No.	8768	472
Race [No. (%)]		
White	7443 (85)	412 (87)
Non-white	1325 (15)	60 (13)
Median age [years (IQR)]	31 (27–34)	26 (23–31)
Tobacco smoking [No. (%)]		
No	6670 (76)	114 (24)
Yes	2098 (24)	358 (76)
Intravenous drug use [No. (%)]		
Never	NA	180 (38)
Former	NA	144 (31)
Current	NA	148 (31)
Parity [No. (%)]		
Nuliparity	5066 (58)	225 (48)
Multiparity	3702 (42)	247 (52)
No. fetuses (%)		
Singleton	8508 (97)	462 (99)
Twin	248 (3)	5 (1)
Triplets	12 (0)	0 (0)
Median known duration of HIV infection [months (IQR)]	NA	19 (4–58)
Median CD4 cell count [cells/ μ l (IQR)]	NA	441 (276–683) ^c
Antiretroviral therapy prior to pregnancy [No. (%)]		
None	NA	360 (76)
Suboptimal ^d	NA	26 (6)
HAART ^e	NA	86 (18)
Antiretroviral therapy during pregnancy [No. (%)]		
No	NA	280 (59)
Suboptimal ^d	NA	73 (15)
HAART ^e	NA	119 (25)

NA, not available or not applicable; IQR, interquartile range.

^aFrom January 2001 to July 2003; 82 (0.9%) of the 8768 were infected with HIV.

^bFrom November 1985 to July 2003.

^cData available for 295 patients.

^dDefined by the concomitant use of less than three antiretroviral drugs.

^eDefined by the concomitant use of at least three antiretroviral drugs.

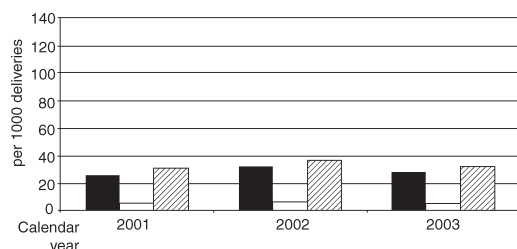


Fig. 1. Proportion of cases of pre-eclampsia (black columns), fetal death (white columns) or adverse outcome (either pre-eclampsia or fetal death; hatched columns) in the general population of pregnant women from January 2001 until July 2003. At risk population in 2001, 2002 and 2003 was 3113, 3634 and 2021, respectively. There were no significant changes over this period for pre-eclampsia ($P = 0.483$), fetal death ($P = 0.886$) or adverse outcome ($P = 0.629$) using the χ -squared test for linear trend.

fetal death without pre-eclampsia, and 7 (0.8 per 1000) cases of pre-eclampsia with fetal death. The incidence per 1000 deliveries of pre-eclampsia, fetal death, and either pre-eclampsia or fetal death in the study period was 28.6 [95% confidence interval (CI), 25.2–32.4], 5.3 (95% CI, 3.5–7.0) and 33.1 (95% CI, 29.4–37.1), respectively. The distribution over time for pre-eclampsia and fetal death remained relatively constant (Fig. 1). In this period, comparison of HIV-infected women with HIV-negative women showed significantly higher rates in the former for pre-eclampsia [109.8/1000 versus 28.6/1000; crude odds ratio (OR), 4.3; 95% CI, 1.9–9.0; $P < 0.001$] and fetal death (61.0/1000 versus 5.3/1000; crude OR, 13.7; 95% CI, 5.3–35.6; $P < 0.001$).

In multivariate models, multiple gestation (adjusted OR, 3.6; 95% CI, 2.3–5.6; $P < 0.001$), HIV infection (adjusted OR, 4.9; 95% CI, 2.4–10.1; $P < 0.001$), multiparity (adjusted OR, 0.76; 95% CI, 0.58–0.98; $P = 0.040$) and tobacco smoking (adjusted OR, 0.65; 95% CI, 0.46–0.90; $P = 0.010$) were identified as independent factors associated with pre-eclampsia ($n = 251$). The variables associated with fetal death ($n = 46$) in the univariate analysis were intravenous drug use during pregnancy (crude OR, 8.6; 95% CI, 2.6–28.5; $P < 0.001$) and HIV infection (crude OR, 13.7; 95% CI, 5.3–35.6; $P < 0.001$). No adequate multivariate model to assess risk factors for fetal death in the general population could be found.

When the outcome was the development of either pre-eclampsia or fetal death ($n = 290$; 33/1000 deliveries), the multivariate analysis identified multiple gestation (adjusted OR, 3.0; 95% CI, 1.9–4.6; $P < 0.001$), HIV infection (adjusted OR, 4.6; 95% CI, 2.3–9.1; $P < 0.001$), multiparity (adjusted OR, 0.70; 95% CI,

0.54–0.90; $P = 0.005$) and tobacco smoking (adjusted OR, 0.71; 95% CI, 0.52–0.96; $P = 0.024$) as independent risk factors associated with this adverse outcome.

Pre-eclampsia and fetal death in the population of HIV-infected women

From November 1985 until July 2003, 472 HIV-infected pregnant women were included in this study, of whom 86 (18%) had received HAART prior to pregnancy (Table 1). The proportion of HIV-infected pregnant women with HAART (defined by any combination including at least three antiretroviral drugs) prior to or during pregnancy was 5% in 1997, 50% in 1998, 87% in 1999, 87% in 2000, 87% in 2001, 97% in 2002 and 91% in 2003. There were six (13/1000) cases of pre-eclampsia without fetal death, five (11/1000) cases of fetal death without pre-eclampsia, and three (6/1000) cases of pre-eclampsia and fetal death (Table 2). Pre-eclampsia and fetal death remained very low until 2001 and sharply increased thereafter (Fig. 2). The incidence per 1000 deliveries of pre-eclampsia, fetal death, or either pre-eclampsia or fetal death in the study period was 19.1 (95% CI, 8.7–36.2), 17.0 (95% CI, 7.3–33.4) and 29.7 (95% CI, 16.2–49.8), respectively. No evident cause of fetal death was identified in the necropsy or caryotype of fetuses carried by HIV-infected women.

In multivariate models, the use of HAART prior to pregnancy (adjusted OR, 8.9; 95% CI, 1.7–45.5; $P = 0.009$) and tobacco smoking (adjusted OR, 0.065; 95% CI, 0.008–0.547; $P = 0.012$) were independent factors associated with the development of pre-eclampsia ($n = 9$) in HIV-infected women. The variables associated with fetal death ($n = 8$) in the HIV-infected population in the univariate analysis were age (crude OR, 1.178 per year; 95% CI, 1.030–1.346; $P = 0.017$), known duration of HIV infection (crude OR, 1.020 per month; 95% CI, 1.008–1.031; $P = 0.001$), and HAART prior to pregnancy (crude OR, 7.881; 95% CI, 1.846–33.639; $P = 0.005$). No adequate multivariate model was found to assess risk factors for fetal death in the HIV-infected population. When the outcome was either pre-eclampsia or fetal death ($n = 14$; 30/1000 deliveries), the multivariate analysis identified the use of HAART prior to pregnancy (adjusted OR, 5.6; 95% CI, 1.7–18.1; $P = 0.004$) and tobacco smoking (adjusted OR, 0.183; 95% CI, 0.054–0.627; $P = 0.007$) as independent factors associated with this adverse outcome.

Plasma insulin and selectins in HIV-infected pregnant women

P-selectin increased over pregnancy in both those who did develop pre-eclampsia ($n = 9$) and those who did not ($n = 9$), but the increase in the former was significantly higher at all time points (Table 3). There was a trend towards higher E-selectin values prior to pregnancy and in the puerperium in those who did develop pre-eclampsia compared with those who did not, but the

Table 2. Characteristics of the HIV-infected patients who developed pre-eclampsia or fetal death.

Patient	Age (years)	Year of delivery	Parity	Antiretroviral drugs prior to pregnancy ^a	Antiretroviral drugs during pregnancy ^a	CD4 cell count (cells/ μ l) ^b	Plasma HIV-1 (copies/ml) ^b	Maximum blood pressure (mmHg) ^c	Proteinuria (mg/24 h) ^c	Gestational age at delivery (weeks)	Fetal weight (g)	Fetal death	Pre-eclampsia
1	27	1989	2	None	None	nd	Not done	130/80	Negative	28	1120	Yes	No
2	28	1994	2	None	None	416	Not done	120/75	Negative	31	1700	Yes	No
3	29	1999	1	None	AZT, 3TC, NFV (5)	326	<200	120/75	Negative	37	3000	Yes	No
4	25	2002	2	AZT, 3TC, IDV (24)	AZT, 3TC, IDV (8)	1010	<200	165/115	1222	36	3480	No	Yes
5	32	2002	0	AZT, 3TC, NFV (11); d4T, ddi, NVP (5); d4T, ABC, IDV, RTV (1) d4T, NVP, ABC(3); d4T, ABC, NVP, IDV, RTV (1); d4T, ddi, ABC, NVP (4) AZT, 3TC, ddi, NVP (3)	AZT, 3TC, ddi, NVP(3); AZT, ddi, NFV (4)	395	<200	125/80	Negative	30	695	Yes	No
6	30	2002	0	AZT, ddi (54)	AZT, ddi (7)	611	<200	165/100	8000	32	510	Yes	Yes
7	27	2002	2	None	AZT, 3TC, NVP (2); 3TC, d4T, NFV (1)	423	<200	160/110	1588	37	3265	No	Yes
8	23	2002	0	None	AZT, 3TC, NVP (5)	952	<200	140/100	5976	37	2235	No	Yes
9	42	2002	0	AZT, ddC, SQV (23); d4T, 3TC, IDV (25); 3TC, ABC, d4T (14); AZT, 3TC, ABC (10)	AZT, 3TC, ABC (1); AZT, 3TC, NVP (5)	848	<200	150/95	980	28	770	Yes	Yes
10	28	2002	1	d4T, 3TC, IDV (3); d4T, 3TC, SQV (13); AZT, 3TC, NVP (37)	AZT, 3TC, NVP (8)	262	<200	170/110	+++ (dipstick proteinuria)	38	3295	No	Yes
11	33	2003	0	AZT, ddi, IDV (34); AZT, 3TC, NVP (7); AZT, ABC, IDV (4); AZT, ddi, IDV (15)	AZT, ddi, IDV (8)	1123	<200	160/100	1620	37	2590	No	Yes
12	29	2003	0	3TC, ABC, NFV (30)	AZT (1)	703	<200	140/95	1560	37	3305	No	Yes
13	31	2003	2	d4T, ddi, NFV (1); AZT, 3TC, NVP (1); d4T, 3TC, NVP (21)	d4T, 3TC, NVP (2)	246	<200	205/135	975	22	177	Yes	Yes
14	33	2003	2	d4T, 3TC, NVP (64)	d4T, 3TC, NVP (9)	928	<200	120/80	370	40	2880	Yes	No

AZT, zidovudine; 3TC, lamivudine; ddC, zalcitabine; d4T, stavudine; ddi, didanosine; ABC, abacavir; NVP, nevirapine; IDV, indinavir; SQV, saquinavir; NFV, nelfinavir; RTV, ritonavir.

^aThe antiretroviral drugs prior to and during pregnancy give the combinations administered in time order with the duration of each treatment in months in parentheses.^bValue prior and closest to the diagnosis of pre-eclampsia or fetal death.^cValue at the diagnosis of pre-eclampsia or fetal death.

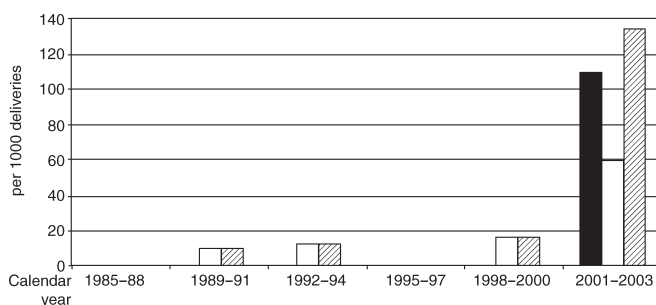


Fig. 2. Proportion of cases of pre-eclampsia (black columns), fetal death (white columns), or adverse outcome (either pre-eclampsia or fetal death; hatched columns) in the HIV-infected population from November 1985 until July 2003. The at-risk group was 86, 104, 83, 54, 63 and 82, respectively, in 1985-88, 1989-91, 1992-94, 1995-97, 1998-2000 and 2000-03. There were significant changes over this period for pre-eclampsia ($P < 0.001$), fetal death ($P = 0.006$), or adverse outcome ($P < 0.001$) using the χ -squared test for linear trend.

differences were not statistically significant during pregnancy itself (Table 3). Insulin during pregnancy was significantly higher in those who did develop pre-eclampsia (median 17.6 mU/l; interquartile range, 15.1-54.4) than in those who did not (median 7.1 mU/l; interquartile range, 5.0-11.1) ($P = 0.001$) (Table 3).

Discussion

The incidences of pre-eclampsia and fetal death have sharply increased in our cohort of HIV-infected pregnant women from those seen in the pre-HAART era; these complications were formerly uncommon. Although the censorship date for this analysis was July 2003, there have been four additional cases of pre-eclampsia among 38 new pregnancies in HIV-infected women from July 2003 until December 2004. These data are in accord with the increasing rates described in this study and they argue against mere anecdotal findings. These increasing trends were not seen in our general population of pregnant women, in which these complications developed at

relatively stable low rates concordant with those reported for the population of pregnant women in Spain [21,22]. In our study, the contribution of HIV infection in recent years has been important enough to emerge as an independent risk factor for pre-eclampsia and fetal death in the general population. One randomized trial and several cohort analyses have not found a negative impact of zidovudine monotherapy on the outcome of pregnancy [10,23,24]. Some European studies have suggested that combination therapy might increase the incidence of preterm birth [10,11,24], although this finding had not been reproduced from cohorts in the United States [3,25]. Recent data from a single institution in the United Kingdom [13] and from several centres participating in the European Collaborative Study have shown increasing rates of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving HAART [14], which agrees with our observations.

Pre-eclampsia and fetal death coexisted more frequently in our cohort of HIV-infected women than in the general population of pregnant women. Causes of fetal death in HIV-infected pregnant women are not clearly

Table 3. Comparisons of the measurements of P- and E-selectin and insulin at different time-points in HIV-infected women who did and did not develop pre-eclampsia.

	Developed pre-eclampsia (n = 9)	No pre-eclampsia (n = 9)	P value
Median P-selectin [μ g/l (IQR)]			
Immediately prior to the estimated date of conception	23.2 (21.3-29.3)	13.3 (12.1-14.9)	0.004
During pregnancy	37.5 (30.3-53.2)	22.1 (12.4-31.0)	0.024
Puerperium	60.1 (42.0-85.4)	35.9 (27.5-46.6)	0.050
Median E-selectin [μ g/l (IQR)]			
Immediately prior to the estimated date of conception	35.4 (27.8-45.4)	26.8 (18.7-28.3)	0.052
During pregnancy	29.8 (26.7-39.8)	35.2 (23.3-41.7)	0.863
Puerperium	40.4 (33.8-53.5)	31.6 (21.3-43.4)	0.063
Median insulin [mU/l (IQR)]			
During pregnancy	17.6 (15.1-54.4)	7.1 (5.0-11.1)	0.001

IQR, interquartile range.

understood. Although pre-eclampsia is a well-recognized cause of fetal death in the general population [20], only some HIV-infected patients with pre-eclampsia had fetal death and there were cases of fetal death not coexisting with pre-eclampsia in our study. Nevertheless, a potential common pathogenesis may exist in HIV-infected pregnant women given the higher than expected coexistence of these conditions.

Despite considerable research, the pathogenesis of pre-eclampsia remains unclear and many hypotheses have been proposed to explain its occurrence, including immunological derangements, genetic factors, increased insulin resistance, dietary calcium deficiency, increased oxidative stress and prostaglandin imbalance [26]. We identified risk factors for pre-eclampsia (multiple gestation, multiparity and tobacco) and for fetal death (intravenous drug use) that have been already described for the general population [27]. Tobacco smoking has been paradoxically associated with a higher risk for fetal death [28] and a decreased risk for pre-eclampsia [29]. Of note, tobacco smoking was three times more prevalent among HIV-infected pregnant women than in the general population of pregnant women (Table 1). We did not find tobacco smoking associated with a higher risk for fetal death but a decreased risk for pre-eclampsia. Despite the reasons for the potential positive role of tobacco smoking in pre-eclampsia, its substantial negative effects on maternal and fetal morbidity cancel any potential benefit.

We found that HIV infection was an independent risk factor both for pre-eclampsia and for fetal death in our general population of pregnant women followed in recent years. This finding has not been previously reported [26,27]. Potential explanations may be a failure to include HIV-infected women in the general population studied, studies carried out on the general population in years prior to the HAART era, and the possibility that the risk associated with treated HIV infection may have been too low to be detected even in studies focused on the adverse outcomes of pregnancy in HIV-infected women [7,25]. When we restricted the analysis to the HIV-infected population, the use of HAART before pregnancy was identified as a factor for pre-eclampsia or fetal death although we failed to find a higher risk for any individual antiretroviral drug or class. We recognize that our study did not have sufficient numbers for an evaluation of the risk by individual drugs. The duration of exposure to HAART in HIV-infected patients has been also associated with the risk of adverse events such as lipodystrophy [30] and myocardial infarction [6], and these problems are considered to be long-term adverse effects of current antiretroviral therapy. The finding of increased insulin levels in the HIV-infected pregnant women with pre-eclampsia compared with those without suggests an underlying insulin resistance state, which has already been reported in pre-eclampsia in the general population [31–33]. We also found increased plasma levels of P-selectin,

although not of E-selectin, at different time-points during pregnancy in HIV-infected women developing pre-eclampsia compared with those who did not. The P- and E-selectins are endothelial adhesion molecules that have been implicated in the pathogenesis of pre-eclampsia in the general population [16,17].

In summary, we have found that the risk of pre-eclampsia and fetal death is increased in HIV-infected pregnant women, that this risk is associated with the exposure to HAART prior to pregnancy, and that insulin resistance and endothelial inflammation may be potential underlying mechanisms. If our results are confirmed, close monitoring for pre-eclampsia and fetal distress in HIV-infected pregnant women will be needed. Despite these results, we believe that the use of HAART prior to and during pregnancy should not be discouraged because there is strong evidence that the benefits of HAART clearly outweigh the potential risks.

Sponsorship: This study was supported in part by grants PI02590, Fondo de Investigaciones Sanitarias, and RIS G03/173, Red Temática Cooperativa de Investigación en SIDA, Ministerio de Sanidad y Consumo (Spain).

References

1. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, *et al.* **Declining morbidity and mortality among patients with advanced HIV infection.** *N Engl J Med* 1998; **338**:853–860.
2. Mocroft A, Vella S, Benfield TL, Chiesi A, Miller V, Gargalianos P, for the EuroSIDA Study Group. **Changing patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV.** *Lancet* 1998; **352**:1725–1730.
3. Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson C, Pitt J, Diaz C, *et al.* **Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission.** *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology* 2002; **29**:484–494.
4. Watts DH. **Management of human immunodeficiency virus infection in pregnancy.** *N Engl J Med* 2002; **346**:1879–1891.
5. Martinez E, Gatell JM. **Metabolic abnormalities and body fat redistribution in HIV-1 infected patients: the lipodystrophy syndrome.** *Curr Opin Infect Dis* 1999; **12**:13–19.
6. The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. **Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction.** *N Engl J Med* 2003; **349**:1993–2003.
7. Watts DH, Balasubramanian R, Maupin RT Jr, Delke I, Dorenbaum A, Fiore S, *et al.* **Maternal toxicity and pregnancy complications in human immunodeficiency virus-infected women receiving antiretroviral therapy: PACTG 316.** *Am J Obstet Gynecol* 2004; **190**:506–516.
8. Brocklehurst P, French R. **The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis.** *Br J Obstet Gynaecol* 1998; **105**:836–848.
9. Leroy V, Ladner J, Nyiraziraje M, de Clercq A, Bazubagira A, van de Perre P, *et al.* **Effect of HIV-1 infection on pregnancy outcome in women in Kigali, Rwanda, 1992–1994.** *AIDS* 1998; **12**:643–650.

10. European Collaborative Study, Swiss Mother and Child HIV Cohort Study. **Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy.** *AIDS* 2000; **14**:2913–2920.
11. Thorne C, Patel D, Newell ML. **Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HIV-infected women treated with highly active antiretroviral therapy in Europe.** *AIDS* 2004; **18**:2337–2339.
12. Stratton P, Tuomala RE, Abboud R, Rodriguez E, Rich K, Pitt J, et al. **Obstetric and newborn outcomes in a cohort of HIV-infected pregnant women: a report of the women and infants transmission study.** *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviro* 1999; **20**:179–186.
13. Wimalasundera RC, Larbalestier N, Smith JH, de Ruiter A, McG Thom SA, Hughes AD, et al. **Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution.** *Lancet* 2002; **360**:1152–1154.
14. European Collaborative Study. **Pregnancy-related changes in the longer-term management of HIV-infected women in Europe.** *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; **111**:3–8.
15. Suy A, Coll O, Lonca M, Martinez E, Milinkovic A, Gatell JM, et al. **High incidence of pre-eclampsia in HIV-infected pregnant women receiving antiretroviral therapy.** *Antiviral Ther* 2003; **8**:L19.
16. Martinez-Abundis E, Gonzalez-Ortiz M, Quiñones-Galvan A, Ferrannini E. **Hyperinsulinemia in glucose-tolerant women with preeclampsia: a controlled study.** *Am J Hypertens* 1996; **9**:610–614.
17. Chaiworapongsa T, Romero R, Yoshimatsu J, Espinoza J, Kim YM, Park K, et al. **Soluble adhesion molecule profile in normal pregnancy and pre-eclampsia.** *J Matern Fetal Neonat Med* 2002; **12**:19–27.
18. Attico NB, Meyer DJ, Bodin HJ, Dickman DS. **Gestational age assessment.** *Am Fam Physician* 1990; **41**:553–560.
19. Walker JJ. **Pre-eclampsia.** *Lancet* 2000; **356**:1260–1265.
20. Cartledge PH, Stewart JH. **Effect of changing the stillbirth definition on evaluation of perinatal mortality rates.** *Lancet* 1995; **346**:486–488.
21. Comino-Delgado R. **Hypertensive states of pregnancy in Spain.** *Clin Esper Hypertens [Hypertens Pregnancy]* 1986; **B5**:217–230.
22. Institute of National Statistics [Instituto Nacional de Estadística]. **Infant mortality data.** In *Analysis and Demographic Studies*. Madrid: INS. Accessed 21 January, 2004: <http://www.ine.es/inebase/index.html>.
23. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, et al. **Reduction of maternal–infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment.** *N Engl J Med* 1994; **331**:1173–1180.
24. Lorenzi P, Spicher VM, Laubereau B, Hirschel B, Kind C, Rudin C, et al. **Antiretroviral therapies in pregnancy: maternal, fetal and neonatal effects: Swiss HIV Cohort Study, the Swiss Collaborative HIV and Pregnancy Study, and the Swiss Neonatal HIV Study.** *AIDS* 1998; **12**:F241–F247.
25. Tuomala RE, Shapiro DE, Mofenson LM, Bryson Y, Culnane M, Hughes MD, et al. **Antiretroviral therapy during pregnancy and the risk of an adverse outcome.** *N Engl J Med* 2002; **346**:1863–1870.
26. Solomon CG, Seely EW. **Preeclampsia: searching for the cause.** *N Engl J Med* 2004; **350**:641–642.
27. Broughton Pipkin F. **Risk factors for preeclampsia.** *N Engl J Med* 2001; **344**:925–926.
28. Floyd RL, Rimer BK, Giovino GA, Mullen PD, Sullivan SE. **A review of smoking in pregnancy: effects on pregnancy outcomes and cessation efforts.** *Annu Rev Publ Health* 1993; **14**:379–411.
29. Dekker G, Sibai B. **Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia.** *Lancet* 2001; **357**:209–215.
30. Martinez E, Mocroft A, Garcia-Viejo MA, Perez-Cuevas JB, Blanco JL, Mallolas J, et al. **Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study.** *Lancet* 2001; **357**:592–598.
31. Kaaja R, Laivuori H, Laakso M, Tikkanen MJ, Ylikorkala O. **Evidence of a state of increased insulin resistance in preeclampsia.** *Metabolism* 1999; **48**:892–896.
32. Innes KE, Wimsatt JH. **Pregnancy-induced hypertension and insulin resistance: evidence for a connection.** *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; **78**:263–284.
33. Lorentzen B, Birkeland KI, Endresen MJ, Henriksen T. **Glucose intolerance in women with preeclampsia.** *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; **77**:22–27.

Appendix

Additional authors are Sonia Pisa, Ricard Vidal and Vicenç Cararach (Obstetric and Gynecological Service), Laura Zamora, Marta Segarra, Montserrat Laguno, Omar Sued, Alejandra Biglia, Felipe García and José M. Miró (Infectious Diseases Service).

Publicació 6: **Prenatal diagnosis in human immunodeficiency virus-infected women: A new screening program for chromosomal anomalies.**

Oriol Coll, **Anna Suy**, Sandra Hernandez, Sonia Pisa, Montserrat Lonca, Claire Thorne, Antoni Borrell. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2006;194:192-198. **(IF: 3,453)**



Prenatal diagnosis in human immunodeficiency virus-infected women: A new screening program for chromosomal anomalies

Oriol Coll, MD, PhD,^a Anna Suy, MD,^a Sandra Hernandez, MD,^a Sonia Pisa,^a Montserrat Lonca, MD,^b Claire Thorne, PhD,^c Antoni Borrell, MD, PhD^a

Institut Clinic de Ginecologia, Obstetricia i Neonatologia^a Servei de Malalties Infeccioses^b Hospital Clinic, IDIBAPS, Barcelona, Spain; Centre for Paediatric Epidemiology and Biostatistics, Institute of Child Health, University College London,^c London, UK

Received for publication February 11, 2005; revised May 5, 2005; accepted June 7, 2005

KEY WORDS

Human immunodeficiency virus
Prenatal diagnosis
Vertical transmission
Amniocentesis

Objective: This study was undertaken to describe a new prenatal diagnosis program among human immunodeficiency virus (HIV)-infected women, and the perinatal outcome of this program's application over a more than 2-year period.

Study design: From June 2000 to December 2003, all HIV-infected women who were booked into the antenatal clinic before 20 weeks were offered a screening for chromosomal anomalies, with midtrimester amniocentesis in the tests that were positive.

Results: A total of 116 pregnancies (including 3 sets of twins) were seen: 96 women were offered and accepted screening for chromosomal anomalies. Thirteen pregnancies had a positive screening test and amniocentesis was performed in 10 at median 16.5 gestational weeks: a trisomy 21 and a monosomy X were diagnosed. No vertical transmissions were documented by age 6 months in the 6 liveborn infants who underwent amniocentesis.

Conclusion: A program of prenatal diagnosis for chromosomal anomalies appears to be effective when applied to HIV-infected women, although safety remains to be proven.

© 2006 Mosby, Inc. All rights reserved.

An increasing prevalence of human immunodeficiency virus (HIV) among women is being reported in Europe, with an estimated 27,000 HIV-infected women of childbearing age in Spain.¹ Thus, a growing number of HIV-infected women are becoming pregnant or planning pregnancies in these settings. This is partly because of the low rate of mother-to-child transmission of HIV infection (MTCT) for infected women on highly

active antiretroviral therapy (HAART) at less than 1%,² and the beneficial impact of HAART on survival and quality of life.³

Although prevention of MTCT remains a key component of the management of pregnant HIV-infected women,⁴ it is also important to ensure that the standards of care for the general obstetric population are applied to HIV-infected women, including prenatal diagnosis of congenital anomalies. This is of particular importance as infected women are becoming pregnant at increasingly older ages.^{5,6} However, the optimal approach to such

Reprints not available from the author.

procedures, and their associated risks with regard to transmission to the fetus, are uncertain. Although older studies described an increased risk of MTCT associated with invasive diagnostic procedures such as amniocentesis,⁷⁻⁹ this finding has limited applicability in the HAART era.

We describe our center's current program for prenatal diagnosis among HIV-infected women, and the perinatal outcome of the application of this program over a more than 2-year period at a time when almost all identified HIV-infected pregnant women received HAART.

Methods

Since November 1985, data on all HIV-infected women delivering in our institution have been collected to monitor changes in maternal characteristics over time. In June 2000, our center adopted a new first-trimester screening protocol for fetal chromosomal anomalies by means of the Combined Test, including first-trimester serum biochemistry (pregnancy-associated plasma protein-A and free β -HCG [Delfia, Wallac, Delfia Fluorometer, Ramsey, MN]) and nuchal translucency assessment as previously described.¹⁰ Briefly, maternal serum was sampled at 8 to 12 weeks and the ultrasound was performed at 11 to 14 weeks. This protocol was considered as suitable for all HIV-infected women. Data are reported until December 2003. When the pregnant women booked into the antenatal clinic before the 13th week, the Combined Test was offered. During the ultrasound examination carried out at 12 to 13 weeks to measure nuchal translucency, early fetal anatomy was assessed.

In addition, maternal serum alpha-fetoprotein was determined to screen for neural tube defects. For women booking at 14 to 19 weeks, second-trimester biochemical screening (alpha-fetoprotein and β -HCG, Delfia, Wallac, PerkinElmer) were performed. For later bookings, no screening method could be applied. In twin pregnancies, Down syndrome risk was estimated with the use of nuchal translucency and maternal age. At the time of the study, the addition of biochemical markers was not clinically applied for multiple births.

A midtrimester amniocentesis was offered if any of the following criteria were fulfilled: (a) estimated risk for Down syndrome greater than 1:250 for first trimester and 1:270 for the second trimester screen; (b) maternal age 38 years or older; (c) finding of a structural fetal anomaly at ultrasound; and (d) a family-inherited disorder. Amniocentesis was also offered if the alpha-fetoprotein value was above 2.5 MoM. Risks and benefits of the invasive procedure were discussed with women who fulfilled any criterion for midtrimester amniocentesis at consultation with her obstetrician, which usually took place between 3 and 7 days after her positive screening result. In particular, the potential

risks for chromosomal anomalies and MTCT of HIV were discussed in depth.

Plasma HIV viral load (Amplicor PCR test; Roche Diagnostics SL, Branchburg, NJ) and CD4 cell counts were determined routinely at the first prenatal visit and also before amniocentesis. For women with hepatitis C virus (HCV) co-infection, quantitative HCV PCR was also carried out (Cobas Amplicor HCV Monitor 2.0; Roche Diagnostics, Branchburg, NJ). Our policy was for all amniocentesis to be performed under the cover of HAART. Women under HAART from before conception were advised to continue their therapy (regardless of whether they needed the procedure) and those untreated were advised to begin HAART immediately if amniocentesis was required. If a treatment failure was detected, antiretroviral treatment was switched following standard guidelines.⁴ In both cases, amniocentesis was delayed to obtain an optimal virologic response. Written informed consent was routinely obtained.

Requirements to perform an amniocentesis were as follows: a positive screen reevaluated with a specific counseling to clearly address risks and benefits, to support maternal decision making. Once the decision was made, the women had to be treated on HAART (suppressive therapy) and optimally an undetectable viral load should be achieved. Amniocentesis was performed by senior staff with a 22G needle; transplacental passage was always avoided. The procedure was rescheduled when an alternative needle insertion was not feasible. Standard cytogenetic studies were performed in all amniotic fluids and additional fluorescent in situ hybridization (FISH) probes were only applied in late samplings (> 19 weeks). Chorionic villus and fetal blood sampling were not considered a safe procedure and were never offered.

Vaginal delivery was allowed if the woman was on HAART and the maternal viral load was less than 1000 copies/mL. An infant was considered HIV infected if specimens obtained at 2 different time points tested positive for the virus with a HIV DNA polymerase chain reaction (PCR) assay¹¹ and HCV infected with the same criteria with a HCV RNA PCR qualitative assay.¹²

The study group was compared with the historical cohort of HIV-infected pregnant women delivering before June 2000. Comparisons were assessed with the Pearson χ^2 and the Student *t* tests for binary and continuous variables, respectively, and with the χ test for linear trend for ordinal variables. The SPSS 11.0 statistical software package (SPSS, Chicago, IL) was used for the analysis.

Results

A total of 495 HIV-infected women delivered in our institution from November 1985 to December 2003 (Table). Characteristics of these women have changed over time. Since 2000, they were older, attended earlier

Table Characteristics of the total population of HIV-infected women who delivered in our institution (495 deliveries). The study group (last column) was compared to the historical cohort of HIV-infected pregnant women delivering before June 2000

Period	Nov 1985-May 1990		June 1990-May 1995		June 1995-May 2000		June 2000-Dec 2003		χ	P^*
Total	134		148		91		116			
	N	%	N	%	N	%	N	%		
Age \geq 38 y	0	0	2	1.4	3	3.3	15	12.9	5.14	< .001
IVDU [†]	123	99.8	99	66.9	41	45.1	36	31.0	-10.37	< .001
First prenatal visit \leq 18 wks	36	26.9	75	50.7	73	80.2	107	92.3	11.36	< .001
HIV diagnosis before pregnancy	35	26.1	86	58.1	64	70.3	95	81.9	9.01	< .001

IVDU, Intravenous drug use.
^{*} χ test for linear trend.
[†] Prior history of injecting drug use.

for prenatal care and were more likely to know their infection status before becoming pregnant.

The study group included 116 pregnancies (including 3 sets of twins) among 111 women who were seen in our clinic since the new first trimester screening protocol for fetal chromosomal anomalies was initiated in June 2000 up to December 2003. In 20 women (17.2%) risk assessment was not performed because of late booking or large referral. Unscreened women were significantly younger (28.2 ± 4.2 vs 31.8 ± 5.1 years, $P = .004$), less know their HIV status before pregnancy (85.6% vs 45%, $P < .0001$) and more had a viral load greater than 1000 copies/mL at initial evaluation (87.5% vs 29.2%, $P = .0009$) than those screened. Interestingly, half of the nonscreened women booked before 19 weeks for antenatal care.

A total of 96 (82.8%) HIV-infected women were offered screening for Down syndrome and none declined (Figure). The first-trimester Combined Test was performed in 73 cases and the second-trimester biochemical screening in 23 cases.

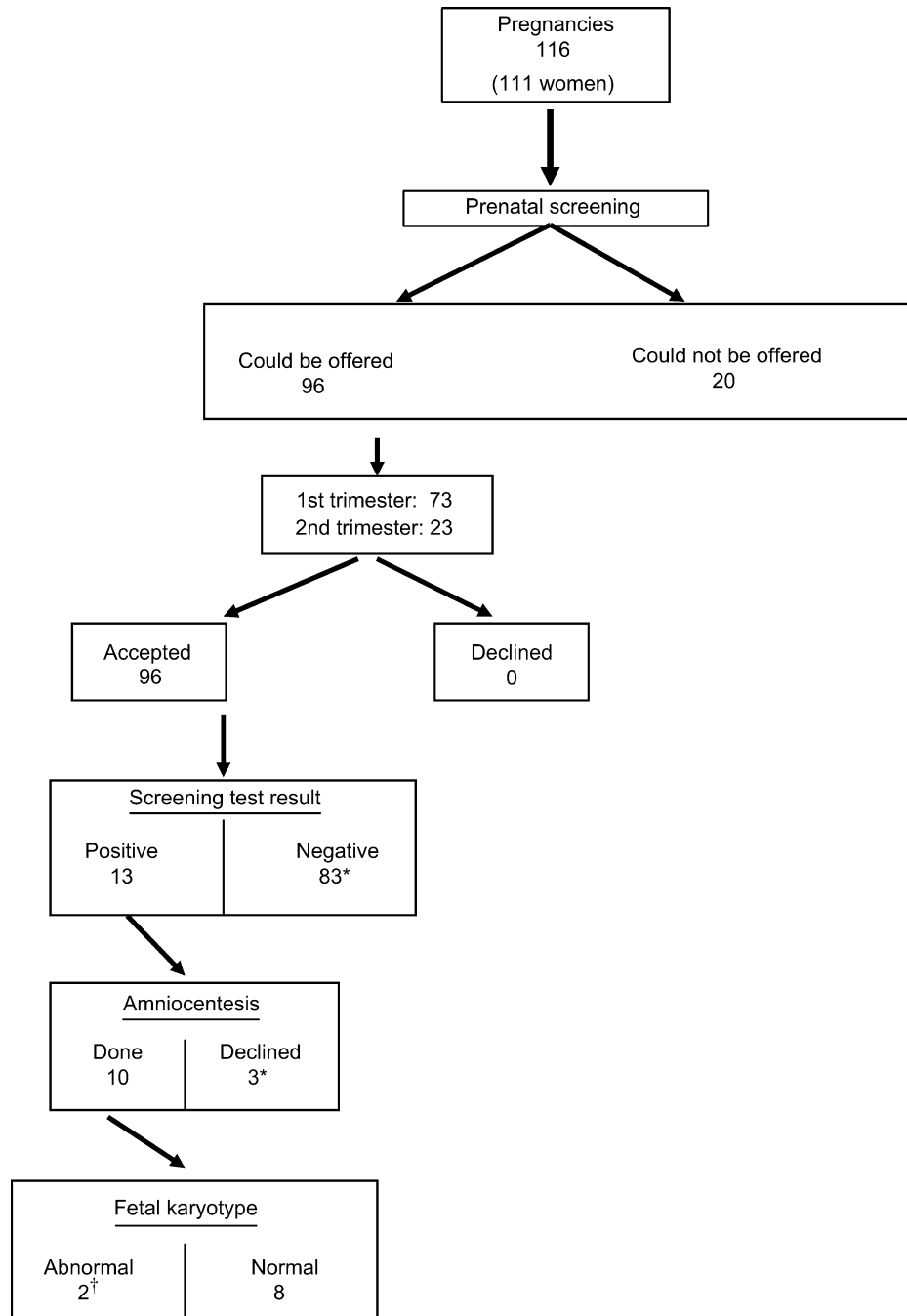
According to the established protocol, amniocentesis should have been recommended in 13 pregnancies (11%) on the basis (main indication) of an increased risk for Down syndrome in 8 cases (a positive Combined Test in the first trimester or positive biochemical screening in the second trimester), advanced maternal age in 2, ultrasound findings in 1, family-inherited disorder in 1, and a raised alpha-fetoprotein in 1. All 3 twin pregnancies among infected women (all dichorionic diamniotic) showed low risk in both fetuses after the first-trimester screening by means of nuchal translucency assessment. After counseling, 3 of the above 13 women declined an amniocentesis. In these pregnancies, risk factors were as follows: advanced maternal age (42 years but a negative Combined Test), increased risk for Down syndrome (1/230) after Combined Test, and raised alpha-fetoprotein (2.68 MoM) with a normal ultrasound evaluation. In all 3 cases, after a careful

risk-benefit evaluation with patients, no procedure was performed.

The remaining 10 pregnant women opted to undergo amniocentesis after risk assessment and counseling. Amniocentesis was performed at median gestational age of 16.5 weeks (range 15-20). Maternal HIV viral load was undetectable at the time of the procedure in 7 (70%) women, all of whom were on HAART from before pregnancy. One woman had a very low viral load and another who had an undetectable viral load when the decision to proceed with amniocentesis was made, had a viral load of 8920 copies/mL at the time of the procedure. For another woman, not on HAART before pregnancy but who started on a nevirapine-containing HAART regimen 2 weeks before the amniocentesis, viral load was not totally suppressed at the time of the amniocentesis, but the procedure could not be further delayed because multiple malformations had been diagnosed by ultrasound.

During the procedure, placental passage was avoided in all cases. No complications related to amniocentesis occurred and 2 chromosomal anomalies were identified. In a fetus with severe oligohydramnios, a large cystic hygroma, and a suspected cardiac defect were observed. Cytogenetic studies revealed a monosomy X and an extended echocardiography revealed a hypoplastic left heart syndrome confirmed by necroptic evaluation. A trisomy 21 was diagnosed in a further case with an increased nuchal translucency and a high first-trimester estimated risk. Both women opted for termination of pregnancy at 18 weeks' gestation.

In 2 further chromosomally normal pregnancies, a fetal demise occurred; in one at 18 weeks, the fetus being grossly malformed, and in the second at 28 weeks with preeclampsia and intrauterine growth restriction. The remaining 6 pregnancies were delivered by elective cesarean section at a median gestation of 37 weeks (range 37-38); 5 of the infants were small for gestational age. Neonatal examination ruled out chromosomal



* No case of suspicion of abnormal karyotype at birth

† Pregnancy termination in both cases

Figure Flowchart of the HIV-infected pregnant women in during the study period.

anomalies in the 83 negative screened cases as well as in the 20 nonscreened pregnancies. Neonatal antiretroviral prophylaxis was given in all cases (zidovudine monotherapy for 6 weeks in all 6 cases). No cases of vertical transmission of either HIV or HCV were documented 6 months after birth in any of the 6 liveborn infants who underwent an amniocentesis, or any case of HIV vertical transmission in the 109 infants in which no invasive procedure was performed (0%, 95% CI 0%-3.33%).

Comment

Nowadays, management of HIV-infected pregnant women not only focuses on the prevention of MTCT, but also on an overall favorable perinatal outcome. Before the HAART era, the increased risk of MTCT with the use of invasive procedures precluded its use in HIV-infected pregnant women. Although HAART has proven to be very effective in reducing MTCT of HIV,¹¹ no information is currently available on its protective effect in women undergoing invasive obstetric procedures.

To our knowledge, this is the first study to specifically evaluate the impact of a program of prenatal diagnosis in HIV-infected pregnant women in the HAART era. In our setting, first- or second-trimester screening for chromosomal anomalies was feasible in most cases, as more than 80% of the HIV-infected women seen already knew of their infection status at their initial antenatal visit, and more than 90% overall had their first prenatal visit before 18 weeks gestation. Furthermore, most women were also already on HAART from before pregnancy. The screen-positive rate observed, either for chromosomal anomalies or neural tube defects, was 11.2% (13/116), with 10 women opting to have amniocentesis. The 20% (2/10) positive predictive value achieved shows that the population undergoing the invasive procedure was appropriately selected. In the 2 chromosomally abnormal fetuses (trisomy 21 and monosomy X), the suspicion had been raised by a positive combined test together with an increased nuchal translucency and a cystic hygroma, respectively. A case of fetal demise occurred but was unrelated to the procedure and was probably due to the reported increased risk of preeclampsia and fetal death among HIV-infected women in the HAART era.¹³

No case of HIV or HCV vertical transmission was documented during the study period regardless of whether amniocentesis took place; however, the number of amniocentesis performed was small and we were unable to evaluate whether the procedure carries an additional risk of MTCT in the HAART era. Although there is no reported information on the use of chorionic villous sampling among HIV-infected pregnant women, it seems reasonable to hypothesize that the placental disruption inherent to the procedure may lead to an increased risk of MTCT. In our opinion, the existence of

an alternative approach for fetal karyotyping such as nontransplacental amniocentesis, precludes the use of chorionic villous sampling in these women.

The rationale behind our change in policy was the theoretical low risk of MTCT associated with amniocentesis among women on HAART and with an undetectable viral load, coupled with the increasing likelihood of chromosomal abnormalities in our aging HIV-infected obstetric population. We wanted to select the pregnancies at risk by the best means available, while reducing the number of unnecessary amniocenteses. In our center, Down syndrome detection rates overall have increased from 30% when maternal age was the main criterion for selecting pregnancies at high risk for fetal chromosomal anomalies (pre-1993), to 65% with use of second-trimester biochemistry (1993-1998) and currently to 90% with the Combined Test.¹⁰ This rise in detection has been achieved with a concomitant decrease in the number of invasive procedures required, ie, from 11% with second-trimester biochemistry to 3% with the Combined Test. We therefore recommend that biochemical first-trimester screening combined with nuchal translucency evaluation plus an early ultrasound scan to detect early structural anomalies should be the gold standard for HIV-infected pregnant women.

Timely provision of services with regard to prenatal diagnosis is a particularly crucial issue in HIV-infected women. First, the interval between diagnosis and confirmation of HIV infection and the referral to a tertiary care center has to be minimal. Second, an invasive procedure should not be performed in pregnant women without a serology for HIV. Third, HIV infection is not a contraindication for amniocentesis, but several weeks of strictly adhered HAART are required to achieve an optimal response and confirmation of such in a short interval before the procedure. In 1 pregnancy, viral load rebounded from undetectable levels at the initial quantification to a detectable level at the time of amniocentesis. In our series although half of the unscreened women booked in the first 18 weeks of pregnancy in their primary care center, a combination of factors prevented them from receiving a proper screening evaluation. In addition, for the minority of HIV-infected women who are not already on HAART, once the need for a fetal karyotype is indicated, there should be enough time to prescribe an appropriate HAART regimen and to verify the efficacy of and adherence to such therapy. Furthermore, a delay in the procedure may be needed to avoid a transplacental puncture in those pregnancies with an anterior placenta.

Scant information has been reported on the subject of prenatal diagnosis in HIV-infected women. Bucceri et al¹⁴ described a cohort of 8 pregnancies in which midtrimester amniocentesis was performed. Six pregnancies were treated with antiretrovirals during the procedure and no cases of MTCT were described. Another small

study¹⁵ reported no chromosomal anomalies after midtrimester amniocentesis in 10 pregnancies in HIV-infected women ending with a livebirth; however, 3 infants vertically acquired infection (all delivered vaginally, 2 had no antiretroviral prophylaxis and the third was severely immunocompromised). Neither of these studies described the overall population of HIV-infected women or the policy used to detect fetal chromosomal anomalies. Regarding biochemical screening, the suspicion of a higher false-positive rate in the HIV-infected population than among uninfected women has been recently confirmed in 2 case-control studies, including 49 and 34 HIV-infected women undergoing second-trimester biochemical screening, with both studies concordant in the observation of increases in the HCG levels that could lead to a higher false-positive rate.^{16,17} Another study found a significant lower alpha-fetoprotein values in HIV-infected women treated with protease inhibitors as compared with the ones with regimens without protease inhibitors.¹⁸ Nevertheless, the limited samples sizes in all studies, preclude the use of correction factors in this population. As far as we know, no data have been reported on first-trimester markers.

The HIV-infected pregnant population seen at our center has dramatically changed in the past few years, with a shift away from late-presenting, active injecting drug users, to older women, who come earlier to prenatal care and usually already know they are HIV infected. Thus, not only can more women benefit from a detection program for chromosomal anomalies, but also more can be evaluated in the appropriate gestational period. Furthermore, there has been a general shift regarding management of HIV-infected women, with issues such as reproductive choices, access to assisted reproduction if required, prenatal counseling to properly inform couples and to select the right time to begin a pregnancy and to avoid certain antiretrovirals becoming increasingly important.

In our experience, HIV-infected women increasingly request prenatal counseling before conception. This facilitates optimal therapeutic and obstetric management of these women, including optimization of efficacy and reduction of potential toxicity of antiretroviral treatment, prenatal diagnosis of congenital anomalies (malformations, chromosomal anomalies), and discussion regarding mode of delivery. HIV-infected women are older as compared with our general obstetric population (median age: 30 years and 8.5% were \geq 38 years old) and therefore they are at higher risk for chromosomal anomalies. These women should benefit, as in other pregnancies, from prenatal diagnostic procedures to disclose fetal anomalies such as Down syndrome. Screening the whole pregnant population irrespective of maternal age, which is our current policy,¹⁰ may be an even more prudent approach in HIV-infected women.

HIV-infected women should be supported in making their own reproductive decisions and should have access

to full medical care. Furthermore, all women should be able to opt for prenatal diagnosis screening and for an amniocentesis if required, regardless of their HIV infection status. Thus, HIV status needs to be established as early as possible.

The need for obstetric health providers to have a policy for management of prenatal diagnosis in HIV-infected women is further underscored by the ageing of the HIV-infected pregnant population in the European setting. Nevertheless, we should emphasize that the number of cases is too small to draw firm conclusions on the safety of the procedure and further larger studies are warranted.

Acknowledgments

We thank Dr Francesc Figueras from the Department of Obstetrics for his contribution in reviewing the statistics and the manuscript and Dr Jose Maria Perez for the pediatric follow-up of the infants.

References

1. UNAIDS, Report on the global AIDS epidemic: 4th global report. 2004, Geneva.
2. Thorne C, Newell ML. Prevention of mother-to-child transmission of HIV infection. *Curr Opin Infect Dis* 2004;17:247-52.
3. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;338:853-60.
4. Rubio R, Berenguer J, Miro JM, Antela A, Iribarren JA, Gonzalez J, et al. Recommendations of the Spanish AIDS Study Group (GESIDA) and the National Aids Plan (PNS) for antiretroviral treatment in adult patients with human immunodeficiency virus infection in 2002. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20:244-303.
5. Ferrero S, Gotta G, Melica G, Biasotti B, Ravera G, Bentivoglio G. 162 HIV-1 infected pregnant women and vertical transmission: results of a prospective study. *Minerva Ginecol* 2002;54:373-85.
6. European Collaborative Study. HIV-infected pregnant women and vertical transmission in Europe since 1986. *AIDS* 2001;15:761-70.
7. Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, Berrebi A, Moudoub-Jeanpetit Y, Benifla JL, et al. Obstetric factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. SEROGEST French Pediatric HIV Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:661-7.
8. Tess BH, Rodrigues LC, Newell ML, Dunn DT, Lago TD. Breastfeeding, genetic, obstetric and other risk factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 in Sao Paulo State, Brazil. Sao Paulo Collaborative Study for Vertical Transmission of HIV-1. *AIDS* 1998;12:513-20.
9. Shapiro DE, Sperling RS, Mandelbrot L, Britto P, Cunningham BE. Risk factors for perinatal human immunodeficiency virus transmission in patients receiving zidovudine prophylaxis. Pediatric AIDS Clinical Trials Group protocol 076 Study Group. *Obstet Gynecol* 1999;94:897-908.
10. Borrell A, Casals E, Fortuny A, Farre MT, Gonce A, Sanchez A, et al. First-trimester screening for trisomy 21 combining biochemistry and ultrasound at individually optimal gestational ages: an interventional study. *Prenat Diagn* 2004;24:541-5.
11. Dorenbaum A, Cunningham CK, Gelber RD, Culnane M, Mofenson LM, Britto P, et al. Two-dose intrapartum/newborn

- nevirapine and standard antiretroviral therapy to reduce perinatal HIV transmission: a randomized trial. *JAMA* 2002;288:189-98.
12. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martinez E, Miquel R, Sanchez-Tapias JM, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004;18:F27-36.
 13. Suy A, Coll O, Martinez E, Lonca M, de Lazzari E, Pisa S, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active anti-retroviral therapy [abstract 921]. 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, 8th-11th February 2004.
 14. Bucceri AM, Somigliana E, Vignali M. Early invasive diagnostic techniques during pregnancy in HIV-infected women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001;80:82-3.
 15. Maiques V, Garcia-Tejedor A, Perales A, Cordoba J, Esteban RJ. HIV detection in amniotic fluid samples: amniocentesis can be performed in HIV pregnant women? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;108:137-41.
 16. Gross SF, Carter SM, Youchach J, Cardeiro DJ, Kellner LH. Maternal serum screening in HIV positive women. *Am J Hum Genet* 1997;A153.
 17. Yudin MH, Prosen TL, Landers DV. Multiple-marker screening in human immunodeficiency virus-positive pregnant women: screen positivity rates with the triple and quad screens. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:973-6.
 18. Einstein FH, Wright RL, Trentacoste S, Gross S, Merkatz IR, Bernstein PS. The impact of protease inhibitors on maternal serum screening analyte levels in pregnant women who are HIV positive. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1004-8.

Publicació 7: Current guidelines on management of HIV-infected pregnant women: Impact on mode of delivery.

Anna Suy, Sandra Hernandez, Claire Thorne, Montserrat Lonca, Marta Lopez, Oriol Coll. European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology 2008;139:127–132. **(IF:1, 565)**



Available online at www.sciencedirect.com



European Journal of Obstetrics & Gynecology and
Reproductive Biology 139 (2008) 127–132



European Journal of
Obstetrics & Gynecology
and Reproductive Biology

www.elsevier.com/locate/ejogrb

Current guidelines on management of HIV-infected pregnant women: Impact on mode of delivery

Anna Suy^a, Sandra Hernandez^a, Claire Thorne^c, Montserrat Lonca^b,
Marta Lopez^a, Oriol Coll^{a,*}

^a *Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona, Spain*

^b *Servei de Malalties Infeccioses, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona, Spain*

^c *Centre for Paediatric Epidemiology and Biostatistics, Institute of Child Health, University College London, London, UK*

Received 4 March 2007; received in revised form 21 August 2007; accepted 17 December 2007

Abstract

Objective: To evaluate acceptance, feasibility and difficulties in the application of a policy of vaginal delivery in selected cases in HIV-infected women.

Study design: HIV-infected women delivering March 2002 to December 2004 and enrolled in a prospective observational study in a University hospital tertiary care center were included. A vaginal delivery was not considered if labor before 36 weeks of pregnancy, preterm premature rupture of membranes, on non-highly active antiretroviral therapy (HAART) or viral load >1000 copies/mL. Main outcome measures were mode of delivery, prematurity, acceptance of vaginal delivery and mother-to-child transmission of HIV infection.

Results: The study included 91 pregnancies, with a total of 95 fetuses. Eighty percent ($n = 73$) of women knew their HIV infection status before becoming pregnant and 57 (63%) were on HAART at conception. Median gestational age at delivery was 37 weeks (range 22–41). Twelve women delivered a live-born before 36 weeks, all with a caesarean section. Among 74 women who reached 36 weeks gestation, 47 (64%) met the pre-established criteria for vaginal delivery, of whom 21 (45%) delivered vaginally. The most common reason for not having a vaginal delivery was the woman's request for a caesarean section. No cases of HIV vertical transmission occurred (0/90, 95% CI 0–4.02%).

Conclusion: Recommending vaginal delivery among HIV-infected women in selected cases was well accepted, particularly once the policy became established. Nevertheless, a high proportion of HIV-infected women will continue to require caesarean section delivery.

© 2007 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: HIV infection; Mode of delivery; Policy; Mother-to-child transmission

1. Background

In developed countries measures to prevent mother-to-child transmission (MTCT) of HIV have been very effective, with transmission rates currently around 1–2% [1–3]. The key components of such measures have been an HIV diagnosis before or early in pregnancy, use of antiretroviral therapy (ART) and an appropriate management of pregnancy and delivery. Although an elective caesarean section (CS) reduced

substantially vertical transmissions among untreated or non-highly active ART (HAART) treated pregnant women [4,5], its effect in women under HAART with an undetectable viral load has been questioned. CS has a higher morbidity than vaginal delivery in the general population and HIV-infected women delivering by elective CS have a greater postpartum morbidity than their uninfected counterparts delivering by the same route [6]. It has therefore been suggested in the HAART era that an elective CS should no longer be performed systematically regardless of maternal treatment and plasma HIV RNA viral load, which is the pre-eminent risk factor for mother-to-child transmission.

In 2001, new Spanish guidelines on the management of HIV-infected pregnant women were issued [7]. These

* Corresponding author at: Servei de Medicina Materno-Fetal, C/Sabino de Arana 1, Hospital Clínic, 08029 Barcelona, Spain.

Tel.: +34 93 227 56 00; fax: +34 93 227 56 05.

E-mail address: OCOLL@clinic.ub.es (O. Coll).

guidelines no longer recommend an elective CS for all HIV-infected women, with offer of vaginal delivery deemed to be acceptable if women were treated with HAART and had a viral load before labor of below 1000 copies/mL. In 2000, the American College of Obstetricians and Gynecologists [8] issued a Committee opinion recommending that women with viral loads greater than 1000 copies/mL should be counseled regarding the potential benefit of scheduled CS. However, they started to concede that “the decision regarding mode of delivery must be individualized”.

Since these recommendations have been published, no information has been available on how the change in policy has impacted on obstetrical results among HIV-infected pregnant women. We present our experience in a single referral center in Spain following the change in policy from systematic recommendation of universal elective CS for all infected women to the offer of vaginal delivery in selected cases in accordance with Spanish guidelines. In this setting, the elective CS rate in the non-HIV-infected population is 21% and in the years preceding the policy change, all women were scheduled for an elective CS. The aim of this study was to evaluate the acceptance, feasibility and difficulties in the application of this new policy.

2. Methods

A prospective cohort of HIV-infected pregnant women attending our center was started in November 1985. Data collected include demographic data, mode of delivery and indication, other perinatal outcomes and HIV-related parameters. In March 2002, the protocol on management of HIV-infected pregnant women in our Institution was modified in accordance with current national guidelines [7]. The new protocol was applied to all HIV-infected pregnant women who were at 34 weeks gestation from this time.

Up to date, fetal well being was assessed as in HIV-uninfected women by monthly evaluation of uterine fundal height, and ultrasound plus Doppler plus a non-stress test (NST) from week 36. However, a more intensive maternal and fetal monitoring schedule was implemented in July 2003 (Doppler ultrasound evaluation from week 24 and NST from week 34) after an observation of an increased incidence of fetal demise and pre-eclampsia (PE) in our population of HIV-infected women [9]. Gestational age was estimated by last menstrual period and corrected by ultrasonography if not concordant. Small for gestational age was defined as a neonatal weight at birth below the 10th centile for its gestational age according to local standards [10]. Specific tests performed during pregnancy were HIV RNA plasma viral load, and CD4 cell counts each trimester. Women co-infected with hepatitis C virus were assessed for quantitative HCV.

For women already diagnosed with HIV infection, options for mode of delivery were discussed with their physician during prenatal counseling or at their first

antenatal appointment. For women identified as infected through antenatal testing, discussion of mode of delivery took place as soon as possible after diagnosis. Women were informed that if they went into labor before 36 weeks that a CS would be indicated in all cases (Fig. 1). Otherwise, a vaginal delivery was encouraged if a woman was on HAART, with good adherence and efficacy reflected in maternal viral load below 1000 copies/mL repeatedly around the time prior to the final decision and until delivery. HCV infection status did not influence the mode of delivery.

Standardized information on HIV vertical transmission risk and on risk of complications associated with different modes of delivery in our center was provided verbally to all women. During the study period all women were counseled regarding mode of delivery by a single physician, with no changes to the information provided due to lack of an evidence-base. This has contributed to the consistency of the approach taken.

A vaginal delivery was not considered in the following circumstances: labor before 36 weeks of pregnancy, preterm premature rupture of membranes (PROM), breech presentation, two prior CS, multiple pregnancies and late HIV diagnosis. Women on non-HAART (those without indications for HAART for their own health who were managed according to the AIDS Clinical Trials Group 076 protocol [11] and those already on successful non-HAART regimens from before pregnancy) were recommended to have an elective CS.

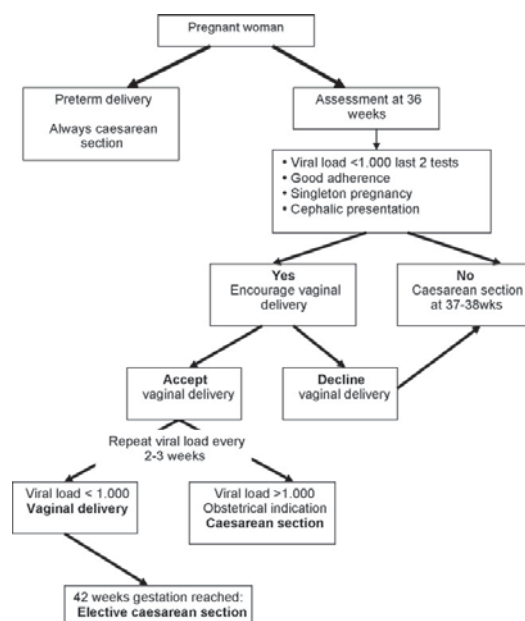


Fig. 1. Flowchart of the decision-making process regarding mode of delivery.

If a woman reached 36 weeks with no contraindication for vaginal delivery, with two consecutive viral loads <1000 copies/mL, she was encouraged to opt for a vaginal delivery (Fig. 1). Women were informed of specific risks and benefits of mode of delivery among HIV-infected women, including postpartum morbidity. Due to the limited information on the potential benefits of such a new policy and in recognition of patient rights to choose, women could still opt for an elective CS.

For those women who opted for a vaginal delivery, viral load was monitored every 2–3 weeks and if viral rebound was observed, an elective CS was scheduled. At the time of labor, an emergency CS was recommended if there was an indication for prompt delivery (such as PE, post-term pregnancy, chorioamnionitis, etc.) or prolonged rupture of membranes with an unfavorable Bishop score. If intrapartum loss of fetal well being occurred, invasive monitoring of fetus such as scalp blood sampling was contraindicated. Cervical ripening with prostaglandin was not envisaged.

Elective CS were scheduled between 37 and 38 weeks of gestation. Intrapartum and neonatal antiretroviral prophylaxis was given according to national guidelines [7]. Specific antimicrobial prophylaxis was given to all women with PROM, those with a positive culture for GBS and to all women having a CS, immediately after cord clamping. Criteria used for infant follow-up and diagnosis of HIV and HCV infection were per national guidelines [7].

Maternal postpartum complications were recorded following the US National Institutes of Health Taskforce on caesarean childbirth criteria (National Institutes of Health Consensus) [12]. Postpartum morbidity was defined as postpartum hemorrhage requiring blood transfusion or surgery, pneumonia or pleural effusion, peritonitis, sepsis, diffuse intravascular coagulation, thromboembolism, fever >38 °C

beyond 24 h postpartum, wound infection, curettage of the uterine cavity, endometritis and urinary tract infection.

3. Results

Ninety-one HIV-infected women delivered between March 2002 and December 2004, including four sets of twins. Most women were white ($n = 75$, 82.4%) and nulliparous ($n = 46$, 51%), with a median age of 32 years (range 18–42). Most acquired HIV sexually ($n = 67$, 74%), 73 (80%) had been diagnosed before pregnancy and overall 81 (89%) had their prenatal visit before 20 weeks gestation. Only three women were identified as HIV infected after 24 weeks, at 35 and 39 weeks and one 24 h after delivery. HCV coinfection was present in 32% (29 cases), with most being viremic ($n = 24$, 83%). At conception 58 women (64%) were on ART, all but one on HAART. Five stillbirths occurred, all in non-immunocompromised women (Fig. 2), in four cases fetal demise occurred preterm (22–32 weeks) all with PE and in one at term with no identifiable cause; all five women delivered vaginally after labor induction. In the remaining 86 women, median gestational age at delivery was 37 weeks (range 22–41).

3.1. Delivery before 36 weeks

All cases with a stillbirth were excluded for analysis of this subgroup. Twelve women delivered a live-born before 36 weeks all with a CS, in line with unit policy (Figs. 1 and 2). Indications for CS were apparent pre-labor for seven women (58%) (six due to loss of fetal well being and one to HELLP syndrome) and during labor for the remaining five (preterm labor for two, bleeding placenta previa for two and

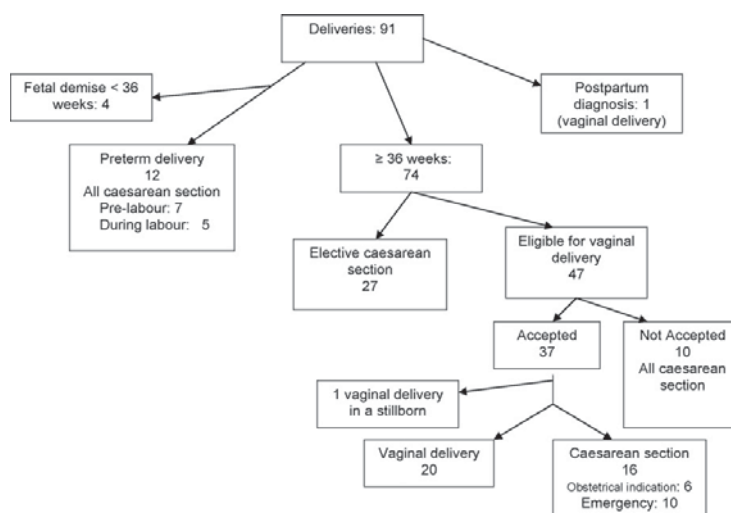


Fig. 2. Mode of delivery in HIV-infected women.

Table 1
HIV-related characteristics (excluding 1 postpartum diagnosis)

	Delivery <36 weeks (total = 12)		Delivery ≥36 weeks (total = 74)	
Last antenatal CD4 count (cells/mL)				
<200	2	12.5	3	4.0
200–499	2		25	33.8
≥500	8		46	62.2
Last antenatal HIV viral load (copies/mL)				
<200	11	91.7	61	82.5
200–999	0		7	9.5
≥1.000	1	8.3	7	9.5
Pregnancy ART				
HAART	11	91.7	65	87.8
Double/mono therapy	1	8.3	9	12.2
ZDV prophylaxis during labor ^a	11	91.7	72/73	98.6
Duration (min, median and range)	300	(0–840)	310	(0–870)

^a Excluding fetal demise.

PPROM for one). All women were appropriately treated with ART during pregnancy and this was reflected in their immune and virological status at the time of delivery (Table 1). The only woman not receiving intravenous zidovudine during CS had severe bleeding due to placenta previa.

3.2. Women who could be evaluated for mode of delivery

A total of 74 women reached the required 36 weeks gestation, and could therefore be assessed with regarding their eligibility for offer of a vaginal delivery. Most had acceptable CD4 levels and <10% had a viral load that contraindicated vaginal delivery (≥1000 copies/mL) (Table 1). However, over one-third did not meet the pre-established criteria for vaginal delivery; the reasons for CS in this group are presented in Table 2. Of the 47 women who could opt for a vaginal delivery, only 21 (45%) eventually delivered by this route, with an episiotomy performed in 28.6% ($n = 6$) cases (Fig. 2); median duration of labor was 240 min (range 5–720) and median duration of ruptured membranes was 120 min (range 5–720).

Among women who initially fulfilled the criteria for vaginal delivery, in over half a CS was performed (Table 2); the most common reason for a CS was the woman's declining a vaginal delivery. In the first 20 months of the study, 9/23 (39%) women who could opt for a vaginal delivery declined it, whereas in the last 14 months, only 1/24 (4%) did so (OR: 14.8, 95% CI: 1.6–346.3). Median duration of intrapartum intravenous zidovudine was 310 min (range 0–870).

3.3. Complications

A difficult fetal extraction occurred in three cases of CS (one case delivered at 25 weeks had a knife fetal scalp lesion, and two cases required forceps (delivered at 33 and 27

weeks)). Global postpartum morbidity was 7.7% (5/65) in CS including a postpartum hysterectomy due to a placenta percreta and four cases of wound infections. In 3.8% (1/26) of cases, the complications occurred after a vaginal delivery. Median duration of postpartum stay was 4 days (range 1–11) (CS: median 5 days, range 4–11 and vaginal delivery: median 2 days, range 1–5).

3.4. Perinatal results

No women breastfed except the one with the postpartum diagnosis of HIV infection (duration, 1 day). Among the 90 live births, there were no cases of HIV (0/90, 95% CI 0–4.02%) or of HCV (0/30, 95% CI 0–11.6%) vertical

Table 2
Reasons for CS among women delivering a live-born at or after 36 weeks (excluding postpartum diagnosis)

	N
No option for vaginal delivery ($n = 27$)	
Elective CS	
Obstetric indication ($n = 10$)	
Breech presentation	5
Two prior CS	3
Other	2
HIV-related indication ($n = 17$)	
Mono/double therapy	9
Viral load >1.000 copies/mL	6
Low CD4 count	1
Late diagnosis	1
Option for vaginal delivery ($n = 47$)	
Elective CS	
Maternal choice/declined vaginal delivery	10
HIV-related indication: viral rebound (>1.000 copies/mL)	1
Indication for pregnancy termination + unfavorable Bishop score	5
Emergency CS	
ROM and unfavorable Bishop score	5
Cephalopelvic disproportion	3
Loss of fetal well being	2

transmissions. Overall incidence of small for gestational age was 23% (22/95). None of the eight newborns from twin pregnancies were small for gestational age.

4. Discussion

Current guidelines in the developed world on management of HIV-infected women have very similar approaches to mode of delivery), with most now recommending a vaginal delivery under optimal circumstances [13,14]. Nevertheless no information is available on the impact of such guidance on the actual mode of delivery. Our findings quantify the impact of a change in policy for mode of delivery options among HIV-infected pregnant women in a clinic-based population with a consistent and standardized approach. The policy adopted in our center was individualized, with emphasis placed on flexibility and maternal choice. We have been able to confirm the feasibility of this tailored approach to mode of delivery in treated HIV-infected women as most were diagnosed before or early in pregnancy and had adequate prenatal care with access to appropriate ART for their own disease progression and prevention of MTCT. Nevertheless, many HIV-infected pregnant women delivered before reaching 36 weeks gestation due to several factors: the previously described high incidence of preterm rupture of membranes and preterm delivery, consistent with other studies in Europe [15,16] and the newly described unexpectedly high incidence of PE and of intrauterine fetal death [9].

Among the women delivering at or after 36 weeks, more than 80% had achieved undetectable viral loads (<200 copies/mL) by this time and a further 10% had viral loads <1000 copies/mL. This reflects the fact that more than half of women were already on HAART before pregnancy, and a good treatment response among the 23 women starting HAART in pregnancy. Although there was only one case of viral rebound in the vaginal delivery option group, the potential for rebound underlies the need for both repeated viral load measurements in pregnancy and good treatment compliance since plasma HIV RNA viral load is key risk factor for MTCT [3,17,18].

One of the purposes of this study was to assess the acceptability of vaginal delivery among HIV-infected women on HAART. A key finding was that although nearly two-thirds of women still pregnant at 36 weeks were eligible for a vaginal delivery, a fifth of these declined this route of delivery, preferring to opt for an elective CS and of the remainder, only 57% ultimately delivered vaginally. Regarding the 10 women who opted not to deliver vaginally despite fulfilling the criteria within the policy, it is possible that this was largely an historic phenomenon, although one must bear in mind the increasing trend for “on request” elective CS in the general population in some Europe settings [19]. For some of these women, the change in our delivery policy took place during their pregnancy and thus

they would have initially been recommended to have an elective CS on the basis of the old policy. Our results suggest that as the policy becomes established fewer women may decline vaginal delivery.

In our study population, prophylactic zidovudine was given intrapartum [11] to all but two cases (one emergency CS and one lacking prenatal care with a postnatal HIV diagnosis the day after delivery). No cases of vertical transmission occurred here, of either HIV or HCV infection. However, the sample size was relatively small (<100 mother-child pairs), reflected in the upper 95% CI of 4% for HIV MTCT.

Vaginal delivery in HIV-infected women requires careful management, particularly regarding potential MTCT risk factors. Risk of intrapartum transmission may be increased with fetal scalp blood pH monitoring, and this procedure should be avoided [20]. The possibility of an increased MTCT risk associated with the use of episiotomy and/or forceps/vacuum extraction cannot be excluded on the basis of current data [2,21]. Furthermore, MTCT risk is increased with prolonged duration of rupture of membranes, with an approximate 2% increased risk with every increase of 1 h in the duration of ruptured membranes [22]. Finally prostaglandin to achieve cervical ripening when pregnancy termination is indicated should be avoided due to their association with long delivery. All these conditions limit labor management in such a way that a high percentage of women in labor will finally undergo a CS.

Concerns regarding the potential for increased risk of postpartum complications following CS deliveries have been raised since elective CS was first suggested as an intervention for preventing MTCT [22–27]. In our cohort, almost all complications occurred in the CS group. Nevertheless the most severe complication was a postpartum hysterectomy due to a placenta percreta (in symptomatic placenta previa), which could not have been prevented by a vaginal delivery. No data regarding infant morbidity according to the HIV-infected mother's mode of delivery are available [27]. Interestingly, in our study fetal extraction in babies born by CS was difficult in three cases, but in only one delivery occurred after 36 weeks of pregnancy, and therefore morbidity could be prevented with a vaginal delivery.

Several factors favor a systematic CS policy. This procedure has proven to reduce HIV-MTCT in women not under HAART [4,5]. Although CS is demanding on the health care services, it reduces the costly and intensive package of tests needed to ensure that vaginal delivery is appropriate (such as repeated viral load measurements, Doppler ultrasonography and fetal monitoring). Finally there is relatively low probability that an HIV-infected woman achieves a successful vaginal delivery and, the potential higher risk of maternal morbidity associated with a non-elective versus an elective CS [12].

On the other hand, other factors favor a trial of vaginal delivery. There is currently no evidence to suggest that

elective CS has any additional benefit in preventing HIV-1-MTCT in women under HAART and with a low viral load. Furthermore, infants born by CS have a higher incidence of neonatal respiratory distress [28]. Finally a CS increases the risk in subsequent pregnancies of another CS, uterine rupture, placenta previa and limits the number of possible offspring [29].

With the current information provided by our and other studies regarding mode of delivery in the HIV-infected population in the HAART era, we conclude that the current policy, in favor of a vaginal delivery among HIV-infected women in selected cases, was well accepted. A high incidence of non-elective CS among HIV-infected women opting for vaginal delivery should be expected due to the previously mentioned delivery management limitations. Furthermore, the management of pregnancy around term is cumbersome and expensive (repeated viral loads, fetal assessments, etc.). Nevertheless the known benefits of a vaginal delivery should be stressed during counseling by their physician, and final decision by the woman should be respected. More studies are required to validate this policy in different settings.

Acknowledgments

We would like to thank the clinical and paramedical staff of the Department of Obstetrics of our institution and especially Susana Nicolau, Montse Vives, Yvone Mestres and Raquel Españas. We thank Marie-Louise Newell from the Institute of Child Health, University College London, London, for her comments on the manuscript.

References

- [1] Dorenbaum A, Cunningham CK, Gelber RD, et al. Two-dose intrapartum/newborn nevirapine and standard antiretroviral therapy to reduce perinatal HIV transmission. A randomised trial. *JAMA* 2002;288:189–98.
- [2] European Collaborative Study. Mother-to-child transmission of HIV Infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2005;40:458–65.
- [3] Navér L, Lindgren S, Belfrage E, et al. Children born to HIV-1-infected women in Sweden in 1982–2003: trends in epidemiology and vertical transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42:484–9.
- [4] The European Mode of Delivery Collaboration. Elective caesarean section versus vaginal delivery in preventing vertical HIV-1 transmission: a randomised clinical trial. *Lancet* 1999;353:1035–9.
- [5] The International Perinatal HIV Group. Mode of delivery and vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis from fifteen prospective cohort studies. *N Engl J Med* 1999;340:977–87.
- [6] European HIV in Obstetrics Group. Higher rates of post-partum complications in HIV infected than in uninfected women irrespective of mode of delivery. *AIDS* 2004;18:933–8.
- [7] Iribarren JA, Ramos JT, Guerra L, et al., Recommendations of the Study Group for AIDS, Infectious Diseases, and Clinical Microbiology, the Spanish Paediatric Association, the National AIDS Plan and the Spanish Gynaecology and Obstetrics Society. Prevention of vertical transmission and treatment of infection caused by the human immunodeficiency virus in the pregnant woman. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001;19:314–35.
- [8] The American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion, Number 234. ACOG, Washington, DC; 2000.
- [9] Suy A, Martinez E, Coll O, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2006;20:59–66.
- [10] Santamaria RVJ, Martín C, García G. Tablas españolas de pesos neonatales según edad gestacional. Barcelona, SA: Laboratorios Menarini; 1998.
- [11] Connor EM, Sperling RS, Gelber RD, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Eng J Med* 1994;331:1173–80.
- [12] National Institutes of Health Consensus development task force statement on caesarean childbirth. *Am J Obstet Gynecol* 1981;139:902–9.
- [13] Delfraissy J. HIV management in 2005. *Presse Med* 2005;34(Suppl.):S5–6.
- [14] British HIV Association, Guidelines for the management of HIV infection in pregnant women and the prevention of mother-to-child transmission. 2005. www.bhiva.org.
- [15] European Collaborative Study the Swiss Mother + Child HIV Cohort Study. Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy. *AIDS* 2000;14:2913–20.
- [16] European Collaborative Study. Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HAART-treated HIV-infected women in Europe. *AIDS* 2004;17:2337–9.
- [17] Garcia PM, Kalish LM, Pitt J, et al. Maternal levels of plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA and the risk of perinatal transmission. *N Eng J Med* 1999;341:394–402.
- [18] Shaffer N, Chuachoowong R, Mock PA, et al. Short-course zidovudine for perinatal HIV-1 transmission in Bangkok, Thailand: a randomised controlled trial. *Lancet* 1999;353:773–80.
- [19] Thomas J, Paranjothy S. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists Clinical Effectiveness Support Unit. National Sentinel Caesarean Section Audit Report. London: RCOG Press; 2001.
- [20] Coll O, Fiore S, Floridia M, et al. Pregnancy and HIV infection: a European consensus on management. *AIDS* 2002;16:S1–8.
- [21] Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, et al. Obstetric factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:661–7.
- [22] The International Perinatal HIV Group. Duration of ruptured membranes and vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis from fifteen prospective cohort studies. *AIDS* 2001;15:357–68.
- [23] Bulterys M, Chao A, Dushimimana A, Saah AJ. Fatal complications after cesarean section in HIV-infected women. *AIDS* 1996;10:923–4.
- [24] Semprini AE, Castagna C, Ravizza M, et al. The incidence of complications after caesarean section in 156 HIV positive women. *AIDS* 1995;9:913–7.
- [25] Read JS, Tuomala R, Kpamegan E, et al. Mode of delivery and postpartum morbidity among HIV-infected women: the women and infants transmission study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:236–45.
- [26] Marcollet A, Goffinet F, Firtion G, et al. Differences in postpartum morbidity in women who are infected with the human immunodeficiency virus after elective caesarean delivery, emergency caesarean delivery, or vaginal delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:784–9.
- [27] Read JS, Newell ML. Caesarean delivery for prevention of mother-to-child transmission of HIV. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;4.
- [28] Stutchfield P. Antenatal betamethasone and incidence of neonatal respiratory distress after elective caesarean section: pragmatic randomized trial. *BMJ* 2005;331:662.
- [29] Taylor LK, Roberts CL, Olive EC, Henderson-Smart DJ. Risk of complications in a second pregnancy following caesarean section in the first pregnancy: a population-based study. *Med J Aust* 2005;183:515–9.

DISCUSSIÓ



La dona infectada pel virus de la immunodeficiència humana adquirida presenta unes característiques diferencials en el maneig del seu procés reproductiu. La impossibilitat de mantenir relacions sexuals desprotegides per tal de concebre un fill, atès el risc de transmissió horitzontal de la malaltia, és el primer problema a solucionar en la cadena d'esdeveniments que succeiran entre la concepció i el part.

Existeixen individus que han estat exposats repetidament al VIH i no han resultat infectats (exposats no infectats = ENI). Diverses teories han intentat explicar aquest fenomen: factors virals o la càrrega viral plasmàtica (Quinn TC, 2000), variants genètiques de l'hoste (Liu R, 1996; Kaslow RA, 2005) o bé la resposta cel·lular i humoral, local i sistèmica enfront del VIH (Kaul R, 2000; Lopalco L, 2000) podrien conferir certa protecció de la infecció VIH.

L'estudi 1, **Immunological Profile of Heterosexual Highly HIV Exposed Uninfected Individuals: Predominant Role of CD4 and CD8 T-Cell Activation**, s'avaluen els canvis immunofenotípics en 21 individus exposats no infectats (16 homes i 5 dones). Segons els resultats d'aquest estudi, serien els canvis en la distribució dels subtipus de cèl·lules implicades en la resposta immunològica, com a conseqüència de l'exposició al virus, els responsables de la major resistència a la infecció VIH dels ENI. La teoria de l'avantatge genètic o immunològic innat que confereix protecció als ENI no recolzaria sobre el nostre estudi.

En els individus exposats no infectats trobem canvis tant en cèl·lules T CD4+ com CD8+ respecte dels controls, una disminució del nombre de cèl·lules naïve i T CD28+ i un increment de cèl·lules T HLA-DR+ , cèl·lules T CD4+ expressant CCR5 i cèl·lules T CD4+ memòria, similar als canvis recollits en el metanàlisi de Miyazawa i col (Miyazawa M, 2009). El model utilitzat en el nostre estudi ens permet correlacionar la càrrega viral plasmàtica amb la resposta immunològica de l'hoste. Els canvis en les cèl·lules T activades i memòria

observats en els ENI es correlacionen directament amb la càrrega viral plasmàtica de les seves parelles sexuals, i els canvis en les cèl·lules naïve i CD28+ ho fan inversament. Aquesta correlació no havia estat demostrada fins a la publicació d'aquest estudi. Recentment s'ha trobat una relació semblant entre la càrrega viral del individu infectat i la resposta immune de l'ENI en el cas d'homes que practiquen sexe oral amb altres homes ([Hasselrot K, 2009](#)).

L'expressió de CCR5 i CXCR4 en els limfòcits perifèrics (principals correceptors de la infecció VIH) es troba incrementada en els ENI, fet que al costat de l'activació immunògena generalitzada no deixa de sorprendre, atès que això, contràriament al que s'esperaria, s'associa a menys susceptibilitat a la infecció. Una possible explicació d'aquest fenomen seria que l'activació immunògena és un factor favorable en induir resistència a la primoinfecció VIH en ENI, mentre que durant la propagació del VIH la major expressió de CCR5 i CXCR4 facilita la replicació del virus i, per tant, la progressió de la malaltia ([Miyazawa M, 2009](#)).

La resposta als mitògens és menor en els ENI, igual que en l'estudi de Koning i col ([Koning FA, 2005](#)). Aquesta resposta està inversament relacionada amb la càrrega viral i augmenta fins a nivells normals quan para l'exposició al VIH. Aquest canvi, després de parar l'exposició, podria explicar-se per l'increment de cèl·lules T CD4 en els infectats pel VIH i per la reducció del nivell d'activació cel·lular i l'increment en CD4+CD28+ i cèl·lules T naïve observat en aquests període en els ENI. La persistència de la resposta VIH específica T CD4 i CTLs en els ENI sembla ser estrictament depenent de l'exposició continuada al virus ([Miyazawa M, 2009](#)) i es correlaciona més amb la freqüència que no amb la duració de l'exposició sexual al virus ([Jennes W, 2003](#)).

S'han descrit dos tipus diferents de resposta immunològica humoral en els ENI: anticossos contra proteïnes involucrades en el procés d'infecció/entrada del VIH i anticossos VIH

específics de les mucoses. En el nostre estudi no es van trobar diferències estadísticament significatives entre els ENI, els infectats i els no exposats quant a la presència d'anticossos contra l'antigen gp160 i l'antigen gp24, ni tampoc no es van trobar diferències entre els valors en el dia 0 i 90 dies després de parar l'exposició al virus. D'altres autors sí que han demostrat la presència d'anticossos contra l'antigen gp120 després d'una llarga exposició al virus (Lopalco L, 2000).

Els anticossos IgA són els més freqüents en les secrecions de les mucoses i en l'epiteli i juguen un paper important en la protecció de les infeccions en aquest nivell. Atès que el VIH es transmet majoritàriament en el nostre àmbit per via sexual, el paper d'aquest tipus d'anticossos en la protecció de la infecció VIH podria resultar important, si bé en el nostre estudi tan sols es va detectar la presència de anticossos IgA contra gp41 en 8 de 21 mostres de sèrum i en cap de les 5 dones ENI es van detectar aquests anticossos en el rentat cervicovaginal. Aquests resultats concorden amb d'altres estudis publicats en què no es troba resposta IgA o es troba en pocs individus (Dorrell L, 2000; Skurnick JH, 2002), mentre que és clarament diferent d'altres en què es demostra la presència d'anticossos Ig A en la majoria dels ENI (Hirbod T, 2008; Hieshima K, 2004). Possiblement, la disparitat en els resultats prové de la dificultat en la tècnica de detecció d'aquests anticossos, atès que sí que s'ha demostrat l'activitat *in vitro* dels anticossos monoclonals IgA contra gp41 derivats dels ENI en bloquejar la transmissió epitelial i la infecció de les cèl·lules CD4 (Tudor D, 2009).

Les dues famílies de variacions genètiques descrites fins a l'actualitat que es relacionen amb la resistència a la infecció són les relatives a les citoquines i als antígens leucocitaris humans (HLA) (Piacentini L, 2008). La deleció D32 del CCR5 confereix protecció enfront de la infecció en els individus homozigots i en els individus heterozigots retarda la progressió a SIDA (Smith MW, 1997). En qualsevol cas, el fet de ser homozigot per la deleció no confereix una resistència absoluta a la infecció ni a la progressió de la malaltia. D'altra

banda, la deleció D32 de CCR5 està present en un percentatge baix dels caucàsians i absent en els africans, si bé s'han estudiat múltiples cohorts de ENI africanes ([Piacentini L, 2008](#)), per tant, el paper d'aquesta variant genètica no és definitiu. En el nostre estudi 5 ENI i 3 infectats van resultar heterozigots per la mutació, però els resultats no van variar en excloure'ls de l'anàlisi de les dades, cosa que fa pensar que les variacions genètiques no resulten determinants en la resistència a la infecció de la nostra cohort.

Els resultats del nostre estudi suggereixen que els canvis immunofenotípics són una conseqüència de l'exposició al VIH. L'activació immunològica de les cèl·lules T CD4+ per si soles no és suficient per afavorir la infecció VIH ni és necessàriament un marcador d'infecció. La disminució de l'expressió de CXCR4 en cèl·lules T CD4+ i T CD8+ observat en els ENI després d'un període lliure d'exposició al virus (90 dies) reforça aquesta hipòtesi.

Les troballes d'aquest estudi constitueixen un esgraó més en la llarga escalada cap a la consecució d'una vacuna que reproduïx els avantatges immunològics dels ENI i que, en definitiva protegeixi de la infecció VIH. Una vegada més es demostra que cap factor per si sol és capaç d'explicar un fenomen tan complex com és la resistència a la infecció VIH, ja sigui de transmissió horitzontal com en la nostra cohort o també vertical com seria el cas dels fills de mare infectada pel VIH no tractada amb antiretrovirals.

La introducció dels antiretrovirals en el tractament de la dona embarassada i d'altres mesures de prevenció han permès disminuir la taxa de transmissió vertical per sota de l'1% en els països desenvolupats ([ECS, 2005](#)). La preocupació dels clínics per la infecció dels fills de mares infectades pel VIH ha anat minvant i s'ha anat centrat cada vegada més en d'altres aspectes com la reducció de la fertilitat, el maneig òptim de la gestació, i la

prevenció o diagnòstic precoç de les complicacions relacionades amb la infecció o amb el tractament.

El TARGA permet el control de la malaltia VIH, aconseguint càrregues virals indetectables i un estat immunitari correcte, la qual cosa aplicada a l'obstetrícia ha comportat la reducció de la transmissió vertical del virus i ha permès a les parelles afectades plantejar-se una paternitat responsable.

Nombrosos estudis, principalment centrats en els països en desenvolupament han suggerit una disminució de la fertilitat en la dona infectada pel VIH (Lewis JJ, 2004; Ross A, 2004), si bé no existien estudis que avaluessin la fertilitat de la dona VIH fins que es van conèixer els resultats de l'estudi 2, **Fertility assessment in non-infertile HIV infected women and their partners.**

Sorprenentment, fins i tot entre les parelles fortament motivades pel desig de ser pares i per minimitzar els riscos de transmissió horitzontal del virus, com les incloses en l'estudi, un 20% no utilitza mètodes barrera per evitar el contagi, cosa que fa pensar que entre les altres parelles aquest percentatge és encara menor, ja que les parelles incloses són les que s'apropen a una consulta preconcepcional.

Les dones infectades pel VIH d'aquesta cohort es troben en bon estat general, amb un control òptim de la malaltia, sovint amb càrregues virals indetectables (63,8 % CV<200 còpies/mL), un bon nivell immunològic (89% amb CD4>200 cel /mm³) i pràcticament sense coinfeccions per d'altres malalties de transmissió sexual. Sí que trobem una alta incidència de lesions cervicals intraepiteliais (9% 8/91), fet que podria corroborar les troballes d'altres estudis recents en què es compara la incidència del virus del papil·loma humà (HPV) en dones infectades i no infectades de la mateixa població. Troben una incidència de HPV entre les dones infectades pel VIH del 69% amb un pic màxim en la franja d'edat entre els 25 i els

34 anys ([Singh DK, 2009](#)), i d'altres estudis apunten que l'alta incidència de lesions cervicals es manté tot i que la població estudiada estigui rebent TARGA ([Mogtomo ML, 2009](#)).

En un 23,4% de les dones sense fertilitat provada recent es va trobar una oclusió tubàrica uni o bilateral en la histerosalpingografia, tot i no tenir història de malaltia inflamatòria pelviana present o passada. No podem descartar que aquestes troballes només siguin degudes al vasoespasme que es pot produir en introduir el contrast per realitzar la prova, tot i que [Frodsham i col \(Frodsham LC, 2006\)](#) troben al voltant d'un 40% d'alteracions tubàriques en dones infèrtils infectades pel VIH, resultats que corroboren els trobats en la nostra cohort. Un altre estudi recent demostra que les dones amb infertilitat tubàrica estan més sovint infectades pel VIH que la població general, i que la patologia tubàrica demostrada per histerosalpingografia més sovint associada a la infecció VIH és l'obstrucció distal amb hidrosalpinx ([Adesiyun AG, 2008](#)).

No es va trobar, en canvi, associació entre els nivells hormonals alterats i la fertilitat en la població estudiada, mentre que sí que es va trobar una alta incidència d'alteracions seminals, fet que calia esperar, ja que s'ha demostrat repetidament que els homes infectats pel VIH tenen més alteracions seminals que la població general ([van Leeuwen E, 2008](#); [Vernazza P \(2\), 2008](#)).

Les parelles en què la dona està infectada pel VIH, presenten molts factors de risc d'infertilitat directament o indirectament associats al VIH i, per tant, es fa imprescindible remetre aquestes parelles a una consulta preconcepcional, no tan sols per tal d'assessorar-los dels riscos de transmissió horitzontal i vertical del virus, sinó també per esbrinar quins són els factors que poden limitar la seva fertilitat i oferir-los la millor possibilitat de concepció minimitzant els riscos de transmissió.

Sovint les parelles afectades per la infecció VIH no poden concebre els seus fills de forma natural, per la qual cosa cal incloure-les en programes de reproducció assistida. Anys enrere

aquesta possibilitat no es podia ni tan sols plantejar. El futur pràcticament inexorable dels infectats cap a una mort segura i ràpida va conduir a les societats científiques i a les autoritats sanitàries a prohibir de forma explícita l'accés a tècniques de reproducció a aquests malalts. Amb l'aparició del TARGA i la cronificació de la malaltia van canviar les directrius fins acceptar l'accés de forma controlada d'aquests pacients a les tècniques de reproducció assistida.

L'experiència acumulada en el programa de FIV ens ha permès l'estudi de les variables relatives al VIH que afecten la fertilitat. La possibilitat de controlar la majoria de les variables implicades en la fertilitat i la contribució de cadascuna d'elles en el procés reproductiu ha fet que la FIV esdevingui un model experimental idoni, a més de ser un procediment terapèutic.

En l'estudi 3, **Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART** s'avalua la taxa d'embarassos obtinguda per fecundació *in vitro* en dones infectades pel VIH comparada amb parelles en les quals només l'home està infectat i amb parelles en què cap dels dos membres no ho està. L'aparellament es realitza per edat (50, 50 i 100 cicles de FIV respectivament). Les taxes de fecundació han resultat significativament inferiors en dones infectades OR 0.30 (95%CI 0.11-0.78; Mantel-Haenszel χ^2 p=0.01). L'edat de la dona, la FSH basal, el nombre d'òocits fertilitzats, el nombre d'embrions obtinguts, el nombre d'embrions de bona qualitat i la dificultat tècnica de la transferència dels embrions no és diferent entre els tres subgrups de dones sotmeses a FIV. L'únic paràmetre que es mostra diferent és la quantitat de FSH requerida per a l'estimulació. La mitjana d'unitats de FSH requerides en dones infectades resulta significativament superior que la de dones no infectades dels altres dos grups (p=0,05). La taxa d'embaràs en les dones infectades pel VIH és més baixa, tot i ajustar per edat, estat del semen, fàrmac

utilitzat per a la supressió i tècnica utilitzada per a la transferència. Aquests resultats són similars als d'altres estudis publicats posteriorment.

Ohi ([Ohi J, 2005](#)), en un estudi no controlat, descriu una taxa de "take home baby" de 22,2% per parella tractada amb una mitjana de dos intents per parella. Compara les taxes d'implantació de la població de dones infectades pel VIH (11,8%) amb les de la població no infectada (14,5%) sense trobar diferències estadísticament significatives, tot i que no es tracta d'un estudi cas-control sinó d'una comparació amb les taxes brutes globals de la població no infectada. En la seva cohort també descriu una taxa molt alta de cancel·lació de cicles per falta de resposta (9.7% IC95%: 3.6–19.9) i la necessitat de més unitats de FSH per tal d'aconseguir el mateix nombre d'òvuls que la població general (2793 IU envers 1878 IU en la població general). Tot i que l'autora troba els seus resultats encoratjadors, la veritat és que no difereixen gaire dels del nostre grup. En el mateix sentit, Terriou i col ([Terriou P, 2005](#)) inclouen en el seu estudi tres grups de pacients sotmesos a FIV-ICSI amb característiques similars però amb el tret diferencial que el grup I està format per dones infectades pel VIH, el grup II per parelles amb infertilitat masculina i el grup III per parelles seronegatives pel VIH; descriu una taxa de cancel·lacions més alta (15,2% vs 4,9% $p < 0.05$), una dosi total de FSH administrada superior (2898 vs 2429 IU $p < 0.001$) i més durada de l'estimulació de la ovulació (13,3 dies vs 11,7 $p < 0.01$) en el grup de dones infectades pel VIH, amb una taxa d'implantació del 12,5% per embriotransferència .

L'estudi de Martinet i col ([Martinet V, 2006](#)) descriu també una taxa d'embaràs inferior de les dones infectades pel VIH (11 vs 20,8% NS) tot i que no troba diferències en la resta de paràmetres requerits per a l'estimulació ovàrica i atribueix les troballes dels altres estudis a possibles biaixos de selecció, com no tenir en compte la raça o la major incidència de malaltia inflamatòria pelviana en les dones infectades pel VIH, aspectes que sí que s'han considerat en el nostre estudi, atès que la pràctica totalitat de les pacients incloses eren de

raça blanca, cap d'elles tenia en el moment de la inclusió cap cultiu positiu per malaltia de transmissió sexual i no hi havia diferències significatives entre els antecedents de les diferents poblacions estudiades (dades no publicades).

El nostre estudi compara les taxes de fertilitat de les dones infectades pel VIH amb les de les parelles serodiscordants i resulten les taxes de fertilitat en dones infectades significativament inferiors tant en les parelles serodiscordants com en els controls. Manigart i col ([Manigart Y, 2006](#)), en el seu estudi, també comparen les taxes d'embaràs de les dones infectades pel VIH amb les de les parelles serodiscordants i també amb les parelles en què ambdós estan infectats, i troba els pitjors resultats en els casos en què els dos membres estan afectes (28,1% vs 23,4% vs 12,5% respectivament), tot i que les diferències no són significatives. També analitza les cancel·lacions de cicle (majoritàriament per falta de resposta ovàrica) i en aquest cas el pitjor resultat és per a les dones infectades pel VIH (42,9% vs 24,2% vs 20% respectivament) tot i que tampoc la diferència no és estadísticament significativa.

Segons els resultats del nostre estudi, l'estat immunològic és una variable associada a la consecució d'embaràs (nombre de CD4 en el moment de la TRA i no el CD4 nadir), però no la càrrega viral plasmàtica o el temps de tractament antiretroviral. Loko i col ([Loko MA, 2005](#)) trobaven una associació semblant entre el nombre de CD4 i la taxa de gestacions espontànies a l'Àfrica, cosa que ens fa pensar que l'efecte negatiu del VIH sobre la fertilitat estigui relacionat amb l'estat immunològic de la pacient, i, per tant, seria corregible amb el tractament antiretroviral.

Cap dels estudis esmentats ([Ohl J, 2005](#); [Terriou P, 2005](#); [Martinet V, 2006](#)), a diferència del nostre estudi, realitza un estudi multivariant per tal d'esbrinar quina és la causa de la baixa fertilitat de la dona VIH. D'aquest estudi es dedueix que l'única variable que es relaciona amb la disminució de les taxes d'embaràs és el nombre d'unitats de FSH requerides per a

l'estimulació ovàrica. Quan es controla per aquesta variable, l'efecte de la infecció VIH desapareix en les variables que afecten a la consecució d'embaràs.

La necessitat d'utilitzar més fàrmac per tal d'estimular la producció d'òcits orienta cap a un d'hipogonadisme subclínic i subanalític, que es manifesta quan sotmetem a les dones infectades pel VIH a un test d'estrès com podria ésser la hiperestimulació ovàrica. Aquestes dades concorden amb d'altres estudis en què s'observa un cert grau d'hipogonadisme en homes infectats pel VIH tot i no tenir disfunció sexual (Biglia A, 2004; Crum-Cianflone NF, 2007; Moreno-Pérez O, 2009).

L'estudi de les taxes d'embaràs aconseguides a partir de la realització d'una FIV amb donació d'òcits ens ha permès avaluar si la disminució de taxa d'embaràs trobada en la població de dones infectades pel VIH és deguda a l'efecte de la infecció VIH, al tractament antiretroviral sobre l'ovari (òcit) o bé és un efecte sobre l'endometri. Atès que les taxes d'embaràs en el cas de donació d'òcits no és diferent entre els grups estudiats, podem suposar que l'efecte deleteri de la infecció VIH o el seu tractament està centrat principalment en l'òcit, és a dir, l'òcit de les dones infectades pel VIH presenta alguna mancança que fa que els resultats de la FIV siguin pitjors en aquesta població.

L'òcit no disposa de receptors del VIH (Baccetti B, 1999) i, per tant, es fa difícil pensar que pugui ser objecte de la toxicitat deguda directament al virus. L'òcit, però, és el responsable de transmetre el DNA mitocondrial a l'embrió, i en nombrosos estudis es reflecteix l'efecte del tractament antiretroviral sobre la funció mitocondrial (Brinkman K, 1998, de Mendoza C, 2004; Miro O (2), 2003; Miro O, 2005). També s'ha descrit l'efecte d'algun grup de fàrmacs en concret (inhibidors de la transcriptasa inversa) sobre la DNA-asa mitocondrial que serien els responsables de la disfunció mitocondrial observada en alguns fills de mares tractades amb aquests fàrmacs durant l'embaràs i l'acidosi làctica que complica algunes gestacions tractades amb aquests fàrmacs (Barret B, 2003; Blanche S, 1999). Tot i que en el nostre

estudi no s'ha trobat relació entre la resistència a l'estimulació ovàrica i el tipus o el temps de tractament, possiblement pel gran nombre i varietat de tractaments emprats, la correcció de les taxes d'embaràs quan realitzem cicles amb donació d'oòcits -per tant, cèl·lules no exposades a la malaltia ni al tractament antiretroviral- fa pensar que sigui l'oòcit el que tingui alguna mancança que pugui afavorir els mals resultats.

L'estudi 4, **Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral treated infertile women**, dissenyat per identificar el motiu d'aquesta subfertilitat posa de manifest la depleció mitocondrial dels oòcits procedents de dones estèrils infectades pel VIH tractades amb antiretrovirals. L'oòcit és la cèl·lula amb una dotació de DNAm més gran de l'organisme ([Santos TA, 2006](#)), però només conté una molècula de DNA per cada orgànu, el que la fa especialment susceptible a tòxics com drogues i infeccions.

El mitocondri juga un paper principal en el metabolisme energètic, en la homeòstasi i en la mort cel·lular. Posseeix el seu propi genoma, de transmissió exclusivament materna, atès que és l'oòcit el qui aporta la dotació mitocondrial i està directament implicat en el procés reproductiu a múltiples nivells. La seva dotació contribueix a determinar la qualitat dels oòcits i contribueix al procés de fertilització i al desenvolupament embrionari ([Reynier P, 2001](#); [May-Panloup P, 2007](#)).

Coneixem, també, que el semen d'homes exposats durant llarg temps a antiretrovirals conté gran nombre de delecions del DNAm ([White DJ, 2001](#)) i les alteracions del DNAm en l'esperma produeixen alteracions a nivell de mobilitat i qualitat espermàtica ([Rovio AT, 2001](#)).

No existia fins ara cap estudi que avalués el DNAm en oòcits de dones exposades a tractaments antiretrovirals. La menor dotació de DNAm en les dones infectades fa pensar que pugui ser efecte directe del tractament antiretroviral atès que especialment els fàrmacs NRTI afecten la dotació mitocondrial de totes les cèl·lules, però tampoc no podem descartar

que sigui un efecte directe de la infecció VIH tot i que no s'ha demostrat fins ara que l'oòcit disposi de receptors pel VIH.

No hem trobat en el nostre estudi associació entre la dotació mitocondrial i el temps de tractament antiretroviral o l'estat immunològic de la pacient, per tant, tot i que sembla que el tractament sigui la causa d'aquesta depleció, caldrien més estudis que avaluessin la dotació de DNAmt en dones infectades pel VIH no sotmeses a tractament antiretroviral.

Dels resultats obtinguts de l'estudi 3 i 4 podríem deduir que la menor fertilitat de les dones infectades pel VIH podria ser atribuïble a la menor dotació de DNAmt dels seus oòcits, fet que vindria condicionat pel tractament antiretroviral.

Tot i que el TARGA ha permès disminuir espectacularment la transmissió vertical del virus, veiem que no està lliure de problemes a curt i llarg termini, s'associa a toxicitats directes dels fàrmacs i també a d'altres alteracions que apareixen en el transcurs del temps i que es fa difícil atribuir-les a un fàrmac o família de fàrmacs concrets.

La incidència de preeclàmpsia i mort fetal de causa desconeguda es va incrementar de manera sobtada a partir de l'any 2000, coincidint amb l'ús de forma habitual (al voltant del 90%) de les teràpies múltiples en el tractament de la dona embarassada infectada pel VIH.

En l'estudi 5, **Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy**, s'ha avaluat la incidència de preeclàmpsia i mort fetal intrauterina en la població general de dones que finalitzen el seu embaràs a l'hospital Clínic de Barcelona, tot i saber que aquesta incidència pot estar falsejada a l'alça, atès que es tracta d'un hospital de referència per a aquestes malalties i, per tant, les taxes poden ser superiors a les esperades per a la població general.

Les taxes de preeclàmpsia de les dones infectades pel VIH ateses en el mateix centre des de l'any 1984 (472 dones) són inferiors a les de la població general (1,9% envers 2,8% respectivament), mentre que les taxes de morts fetals abans del part són superiors (1,7 envers 0,4% respectivament). Fins a l'any 2002 hi va haver tres morts intrauterines (despreniment precoç de placenta normoinserida a les 31 setmanes, després de la ingesta de cocaïna, mort fetal a les 37 setmanes després de la ingesta de benzodiazepines i mort fetal a les 26 setmanes en una gestació no controlada). Les morts fetals a partir de l'any 2000 han estat més nombroses (5 casos entre gener del 2002 i juliol del 2003) i de causes desconegudes.

La incidència de preeclàmpsia i mort fetal augmenta de forma sobtada a partir de l'any 2000, mentre que en la població general es manté constant al llarg del temps. Aquest fet diferencial ens fa pensar en la influència del TARGA i les seves repercussions, ja que és l'única variable que ha canviat al llarg del temps en les dones infectades. De l'estudi de les variables relacionades amb el VIH: tractament, immunosupressió, càrrega viral, etc., sobre la incidència d'aquests mals resultats obstètrics, l'ús de TARGA abans de l'embaràs és l'únic factor relacionat, tot i que no s'ha pogut detectar cap família o fàrmac concret com a factor de risc específic, possiblement per la mida de la mostra.

El TARGA de llarga duració s'ha relacionat amb nombrosos efectes adversos com la lipodistròfia, la cardiopatia isquèmica o la resistència a la insulina (Martínez E, 2001; Martínez E, 2009). Les dones que van desenvolupar preeclàmpsia en la nostra cohort tenen nivells d'insulina superiors a les dones també infectades que no la desenvolupen, de manera similar al que succeeix en la població de dones amb preeclàmpsia no infectades pel VIH. (Kaaja R, 1999; Innes KE, 1999; Lorentzen B, 1998).

Tanmateix, les dones afectes de preeclàmpsia de la nostra cohort presenten uns nivells de selectina P superior. Les selectines són molècules d'adhesió de l'endoteli que també es troben incrementades en la preeclàmpsia en la població general.

Aquests dos fets avalen la presumpció que ens trobem davant d'una preeclàmpsia real i que el mecanisme de producció podria estar relacionat, tal i com resulta de l'estudi multivariant, amb el tractament antiretroviral. Podríem, per tant, considerar la preeclàmpsia com un efecte advers més del tractament antiretroviral que, per les característiques de la malaltia, només es desenvolupa durant l'embaràs.

La preeclàmpsia és una malaltia poc comúna i podríem pensar que les troballes de l'estudi 5 han estat fruit de l'atzar, atès que estudis realitzats a Estats Units ([Kourtis AP, 2006](#); [Bansil P, 2007](#)), que inclouen dades obtingudes de bases de dades nacionals de nombrosos hospitals, no troben una major incidència d'ingrés hospitalari per preeclàmpsia en dones infectades pel VIH respecte de les no infectades. Però dades obtingudes després de tancar l'estudi, quatre casos més de preeclàmpsia en els següents 18 mesos i dades tant esfereïdores com la repetició de mort de causa desconeguda en una de les pacients ja afecta d'aquesta patologia durant el període d'estudi, tot i l'increment dels controls de benestar fetal realitzats en aquestes dones, corrobora els resultats obtinguts.

D'altra banda, l'estudi AmRo ([Boer K, 2007](#)) tot i no trobar diferències estadísticament significatives en la incidència de preeclàmpsia, en un estudi cas control entre dones infectades pel VIH i dones no infectades (2% respecte 1% en les no infectades) no pot confirmar ni desmentir l'efecte del HAART en el desenvolupament de la malaltia atesa la tendència a un augment de preeclàmpsia en dones infectades, tot i que un 74% de les dones introduïdes en l'estudi no rebia HAART abans de l'embaràs.

Un estudi recent ([Williams SF, 2009](#)), que inclou 13 gestacions de dones infectades majoritàriament per transmissió vertical i tractades amb antiretrovirals durant llarg temps,

troba una incidència d'hipertensió gestacional o preeclàmpsia del 30,8%, dada que referma el fet que el temps de TARGA abans de l'embaràs es relaciona amb l'aparició de preeclàmpsia.

El nostre estudi introdueix com a factor de risc de preeclàmpsia i mort fetal la infecció VIH, la qual cosa implica un canvi en la política de control d'aquests embarassos, intensificant els mecanismes de diagnòstic precoç de la preeclàmpsia i els controls de benestar fetal per tal d'evitar no la malaltia en si sinó els efectes de la mateixa. Aquest estudi ha estat el punt d'inici per a la realització d'un estudi més extens on s'avalua l'eficàcia dels marcadors bioquímics i ecogràfics de primer trimestre per predir el desenvolupament de mals resultats obstètrics i per tant establir un subgrup de pacients de risc. Aquest estudi ha estat finançat per les beques FIS PI040484 i FIPSE 36540/05 i els seus resultats encara no han estat publicats.

La introducció del TARGA no tan sols ha suposat un increment d'efectes secundaris o de mals resultants perinatals, ans tot el contrari, ha permès accedir a tècniques diagnòstiques invasives a les gestants infectades pel VIH.

Les embarassades infectades pel VIH són més grans que la població general, tal i com es mostra en l'estudi 6, **Prenatal diagnosis in human immunodeficiency virus-infected women: A new screening program for chromosomal anomalies**. Un 8,5% tenen més de 38 anys, possiblement perquè en molts casos van retardar la seva maternitat pel mal pronòstic que tenia la malaltia abans de l'aparició del TARGA. Es podrien beneficiar igual que les altres gestants de tests diagnòstics d'anomalies cromosòmiques, però sempre sota l'amenaça d'un increment de risc de transmissió vertical.

El nostre estudi avalua la possibilitat de realitzar una anàlisi de cribratge d'aneuploïdies independentment de l'edat de la gestant, per tal de minimitzar el nombre de procediments invasius i per tant la possibilitat de transmissió.

S'estudien 116 embarassos, que inclouen 3 bessonades. El programa de cribratge es va poder oferir a un 82,8% de les pacients, ja que la resta van acudir al nostre centre en edats gestacionals avançades. En 13 casos el cribratge va resultar de risc elevat. En tres casos la pacient, d'acord amb l'equip mèdic i després d'un consell acurat, va rebutjar el procediment. Dels 10 casos restants en què es va realitzar amniocentesi es va detectar una síndrome de Down i una síndrome de Turner. Hi va haver dues pèrdues fetals, una a les 18 setmanes de gestació en un fetus polimalformat amb cariotip normal i una altra a les 28 setmanes de causa no filiada, que correspon a un dels fetus morts intraúter de l'estudi 5. Els sis nascuts vius restants no van resultar infectats, i tampoc no es va detectar cap anomalia genètica ni transmissió del VIH en els nadons fills de mares amb anàlisi de cribratge de baix risc.

En el nostre estudi es va practicar majoritàriament un cribratge combinat de primer trimestre, avaluant tests hormonals: PAPP-A i free β -HCG al voltant de la setmana 10 i ecogràfics: translucència nocal a les 12 setmanes, tal i com havia descrit prèviament Borrell i col ([Borrell A, 2004](#)). El fet de realitzar el cribratge de primer trimestre no va encaminat com en la resta de gestants a poder realitzar un test invasiu més precoç, atès que la biòpsia de còrion tindria un risc teòric més alt de transmissió vertical, sinó a discriminar precoçment quines són les dones candidates a una amniocentesi per tal de poder realitzar el test invasiu en les millors condicions possibles, és a dir, sota TARGA, amb una càrrega viral imperceptible i sense pas a través de la placenta, per tal de minimitzar el risc.

Tot i tenir en compte aquestes variables, en tres dels 10 casos descrits la càrrega viral no era indetectable, en dos casos hi va haver un rebrot de la virèmia que va requerir un canvi de la medicació i, en el tercer cas, les malformacions fetals observades per ecografia van accelerar el procés.

Publicacions anteriors al nostre estudi assenyalaven que les dones infectades pel VIH tenen més cribratges d'alt risc que la població general, resultat de l'efecte de la malaltia sobre

alguns marcadors. La hCG i la α -FP estarien més elevades en les dones infectades pel VIH (Gross S, 2003; Yudin MH, 2003), la hCG augmentaria de forma inversament proporcional al descens de CD4, la α -FP ho faria de manera directament proporcional a la càrrega viral (Gross S, 2003) i també s'afectaria pels inhibidors de les proteases. La α -FP resultaria inferior en les dones que prenen IP (Einstein FH, 2004).

Yudin i Col (Yudin MH, 2003) recomanen l'aplicació d'un test combinat de primer trimestre a les dones infectades pel VIH que combini marcadors hormonals i ecogràfics per tal de minimitzar l'efecte de la infecció, la immunosupressió i els fàrmacs, o bé que es realitzi un cribratge de segon trimestre incloent marcadors ecogràfics com, per exemple, l'ós nasal. El nostre estudi respon exactament a les recomanacions de Yudin i col (Yudin MH, 2003), si bé una avaluació més recent del paper de la infecció VIH, la immunosupressió i el tractament antiretroviral sobre els marcadors de primer trimestre (free β -hCG i PAPP-A), que inclou també les dades de les pacients del nostre estudi, conclou que, tot i que els valors d'aquests marcadors en les dones infectades pel VIH són inferiors als valors de les dones no infectades, aquestes diferències no tenen impacte sobre el valor total del càlcul del risc (Brossard P, 2008) i per tant l'aplicació del cribratge de primer trimestre es pot realitzar a les dones infectades pel VIH amb la mateixa fiabilitat que a les dones no infectades.

L'estudi de Ekoukou i col (Ekoukou D, 2008), publicat recentment, aplica el cribratge de primer trimestre per establir el risc d'aneuploidia i ofereix a les dones amb un test d'alt risc la possibilitat de realitzar una amniocentesi. Tot i que un 67,6% declina la possibilitat per diferents raons, no troba cap cas de transmissió vertical entre els fills vius de les mares sotmeses a amniocentesi de segon o tercer trimestre. En aquests estudi, l'autor assenyala l'alta incidència de preeclàmpsia i mort fetal entre les dones estudiades, tot i que en cap dels casos en què es desenvolupen aquests mals resultats obstètrics la indicació de l'amniocentesi era l'alteració de marcadors bioquímics, factor conegut de risc augmentat de

preeclàmpsia i mort fetal, fet que corrobora també els resultats de l'**estudi 5** presentat en aquesta memòria.

Mandelbrot i col ([Mandelbrot L, 2009](#)) realitzen un estudi retrospectiu de la cohort francesa de dones infectades pel VIH sotmeses a una amniocentesi. D'aquest estudi es conclou, també, que l'amniocentesi no suposa un increment de risc de transmissió vertical sempre i quan aquesta es realitzi sota una cobertura antiretroviral correcte.

El TARGA ha permès també considerar l'opció de part vaginal en les dones infectades pel VIH. La cesària electiva va demostrar sobradament el seu paper protector quan l'embarassada no rebia cap tractament o rebia zidovudina sola ([The European Mode of Delivery Collaboration, 1999](#); [The International Perinatal HIV Group, 1999](#)), però en l'actualitat en que la majoria de dones reben TARGA i assoleixen càrregues virals indetectables, el paper de la cesària queda desmitificat.

En l'estudi 7, **Current guidelines on management of HIV-infected pregnant women: Impact on mode of delivery** s'avalua quina és l'efectivitat real i l'acceptació del part vaginal en les dones infectades pel VIH. S'inclouen 91 embarassos i es permet el part vaginal en el cas d'assolir com a mínim les 36 setmanes de gestació, amb una càrrega viral plasmàtica inferior a 1.000 còpies/mL i sempre que la gestant estigui prenent TARGA. 47 dones complien els requisits establerts, però tan sols 21 d'aquestes van acabar la seva gestació per via vaginal. Els resultats del nostre estudi són similars als presentats per altres autors. Rodrigues i col ([Rodrigues A, 2006](#)) també descriuen que tan sols un 31,7% de les dones que reben TARGA acaben els seus embarassos per via vaginal. Les raons d'aquestes baixes taxes són similars en els dos estudis. En el nostre cas, la raó principal és la negativa de l'embarassada principalment en el primer període en què es va permetre el part vaginal, possiblement perquè havien iniciat la gestació amb el convenciment que la seva finalització

seria una cesària electiva. El grup francès en canvi, descriu com a principal raó el fet de no assolir una càrrega viral indetectable abans del part, seguit de la negativa de la pacient i, finalment, de raons obstètriques que contraindiquen un part vaginal en dones infectades pel VIH. En canvi, en el nostre estudi, la negativa de la pacient va seguida dels efectes del tractament en si, com l'augment de la taxa de preeclàmpsia i la prematuritat que han estat dos factors fonamentals durant l'estudi per no assolir les 36 setmanes de gestació.

En l'estudi AmRo (Boer K, 2006) es descriu una taxa de part vaginal del 62%. Tot i que és molt més alta que en el nostre estudi, el percentatge de dones que inicialment podien optar per un part vaginal era del 78%, per tant, en aquest cas, també un percentatge important de casos es reconverteix en cesària.

El control d'una embarassada que opta per un part vaginal és més costós i complicat que no la realització d'una cesària electiva. Cal el control seriats de la virèmia per detectar un rebrot en la mateixa, tal i com vàrem observar en un dels casos de l'estudi. Cal també la intensificació dels controls de benestar fetal, atès l'increment de risc d'aquests embarassos de preeclàmpsia i mort fetal i tot això per, en un percentatge no menyspreable de casos, acabar en una cesària per males condicions obstètriques o previsió de part llarg.

D'altra banda, el maneig d'un part vaginal en una dona infectada pel VIH no resulta fàcil. Maniobres tan emprades pel control del benestar fetal com el control bioquímico de calota fetal, amniorrèxi per accelerar el part o el monitoratge fetal intern, entre d'altres, es contraindiquen pel risc teòric incrementat de transmissió vertical.

En la nostra sèrie també hem pogut comprovar, malauradament, que la cesària s'acompanya de riscos, alguns que no es poden prevenir amb un part vaginal, com és la histerectomia per placenta percreta, però d'altres sí, com la morbiditat fetal observada en tres de les cesàries en què l'extracció fetal va resultat difícil.

Discussió

La cesària també s'associa a major nombre de complicacions després del part, principalment en les dones infectades pel VIH (Louis J, 2007; Lapaire O, 2006) i dificulta la possibilitat de part via vaginal en embarassos posteriors.

En un futur, cal esperar un increment del nombre de parts vaginals en aquesta població, no tan sols per una major acceptació per part de l'embarassada, sinó també per la milloria dels tractaments antiretrovirals, amb pautes adaptades als canvis farmacocinètics i farmacodinàmics de l'embarassada que permetran assolir més sovint càrregues virals indetectables, per la milloria en el maneig del part vaginal, que permetrà més maniobres de control del benestar fetal i conducció del part, i per la millor acceptació de l'embarassada de la via de part.

APLICACIÓ PRÀCTICA

A red L-shaped graphic element consisting of two parallel lines. The vertical line is on the right, and the horizontal line is at the bottom. The text 'APLICACIÓ PRÀCTICA' is centered between these lines.

Aplicació pràctica dels resultats obtinguts en els estudis inclosos en aquesta memòria

L'elaboració d'aquests estudis ha respos en cada moment a les necessitats emergents de la població infectada pel VIH en el camp de la reproducció, incloent des de la concepció fins al moment del part. En tots els casos han resultat estudis que han aportat quelcom aplicable en la pràctica clínica i tots ells han estat fruit de nombroses esmenes en estudis posteriors que avalen les troballes.

L'estudi 1 ha estat el primer que relaciona la càrrega viral del membre infectat pel VIH de la parella amb la resposta immunològica del membre exposat no infectat. Això ha suposat un petit pas en el coneixement de la complicada infecció VIH en el cas dels exposats no infectats. La continuació d'aquesta línia de recerca permetrà l'aproximació a l'elaboració d'una vacuna ideal que simuli els canvis que es produeixen en les individus exposats no infectats i que permeti distingir quins són els individus que tenen menys risc de contagi en el cas de buscar una concepció natural.

L'estudi 2 ha permès conèixer que existeixen factors associats a la malaltia VIH que interfereixen en el procés reproductiu de les parelles afectades per la infecció i, per tant, ha permès incloure en els protocols de seguiment de la dona infectada pel VIH la recomanació de la realització d'una visita preconcepcional impulsada tant des de l'àmbit de la ginecologia com des de malalties infeccioses (SPNS, 2007; SEGO, 2006). Això ens permet anticipar-nos al desig de gestació de la parella, adequant el tractament i el seguiment de la infecció a les seves perspectives futures.

L'estudi 3 ha permès conèixer la fertilitat de la dona infectada pel VIH sotmesa a una tècnica de fertilització *in vitro* i canviar les pautes d'estimulació de l'ovulació en aquesta població, així com també matisar les recomanacions de les diferents tècniques de reproducció

assistida en aquestes dones, tenint en compte la milloria de resultats quan se sotmeten a tècniques de donació d'òocits.

L'estudi 4 ha permès conèixer les mancances de l'òocit de la dona infectada pel VIH tractada amb TARGA i, per tant, ajudar a la matisació de les recomanacions de les diferents tècniques de reproducció assistida tal i com ja assenyalàvem en l'estudi anterior. Atesos els resultats d'aquests estudis, aconsellarem a la dona infectada pel VIH que una vegada estabilitzada la seva malaltia no demori el moment de la seva concepció, i així mateix no demorarem tampoc el moment de la inclusió d'aquestes dones en programes de reproducció assistida, atès el pitjor pronòstic associat a la infecció VIH i al seu tractament.

L'estudi 5 ha permès conèixer la incidència de preeclàmpsia i mort intrauterina en la població de dones infectades pel VIH. Arran d'aquest estudi la Sociedad Española de Ginecología i Obstetricia (SEGO, 2006) i el Plan Nacional del Sida (SPNS, 2007) van considerar el VIH com un factor de risc pel desenvolupament d'aquests mals resultats obstètrics, i per tant, es va considerar la dona VIH com una gestació d'alt risc. Això va comportar un canvi en les recomanacions de seguiment d'aquestes gestacions, i es va incrementar el control tant matern com del benestar fetal, la qual cosa ens permet anticipar-nos a les complicacions severes.

L'estudi 6 ha permès conèixer l'efecte de l'aplicació d'un programa de cribratge d'aneuploidies en les dones infectades pel VIH. Els resultats d'aquest estudi també han estat incorporats en les recomanacions de seguiment de l'embaràs de la dona infectada pel VIH (SEGO, 2006; SPNS, 2007) permeten la realització d'anàlisis invasius en els casos seleccionats amb garanties suficients per assegurar un baix risc de transmissió vertical de la infecció.

L'estudi 7 ha permès avaluar l'efecte de l'aplicació d'un programa que permeti el part vaginal en condicions seleccionades. El resultat d'aquest estudi i d'altres estudis similars també han

motivats el canvi en les recomanacions de la via del part en la dona infectada pel VIH (SEGO, 2006; SPNS, 2007)

En resum, creiem que la tasca realitzada en el desenvolupament d'aquests estudis s'ha vist recompensada en la millora del tractament de la dona infectada pel VIH en el camp de la reproducció, aprofundint en l'assessorament reproductiu de manera objectiva i fonamentada, escollint la millor tècnica de reproducció assistida o natural en cada cas, coneixent l'efecte del tractament antiretroviral sobre els aspectes reproductius, permetent un major i millor control de les embarassades infectades pel VIH, permetent el diagnòstic precoç de la preeclàmpsia i evitant morts fetals intrauterines, evitant el risc de transmissió vertical secundari a la realització d'una anàlisi invasiva d'aneiploïdies en casos que no ho requereixen i permetent a la dona infectada pel VIH el part vaginal i, per tant, sotmeten fetus i mare a menys complicacions obstètriques derivades de les cesàries innecessàries.

CONCLUSIONS

A red L-shaped graphic element consisting of two parallel lines. The inner line is shorter than the outer line, creating a rectangular frame. The word 'CONCLUSIONS' is centered within this frame.

De l'estudi 1:

1.- Els individus exposats sexualment al virus de la immunodeficiència humana adquirida, no infectats, presenten alteracions en els patrons de distribució tant dels limfòcits T CD4+ com T CD8+.

2.- Els canvis observats en les cèl·lules immunes perifèriques dels individus exposats sexualment al VIH, no infectats, responen a la càrrega viral plasmàtica de les seves parelles.

De l'estudi 2:

3.- Les dones infectades pel VIH, no estèrils, que cerquen consell preconcepcional es troben en bon estat virològic i immunològic però presenten sovint oclusions tubàriques de causa desconeguda. La realització d'una histerosalpingografia és indispensable a l'hora de predir la seva fertilitat.

De l'estudi 3:

4.- Les dones infectades pel VIH sotmeses a fecundació *in vitro* tenen taxes d'embaràs inferiors a les no infectades. Aquesta diferència comporta la necessitat de més fàrmac per a la estimulació. L'únic factor relatiu al VIH relacionat amb la dificultat de l'estimulació ovàrica és el valor dels CD4 en el moment de la teràpia de reproducció assistida. Una millora de l'estat immunològic afavoriria les taxes de fecundació en les dones infectades pel VIH.

5.- Les dones sotmeses a donació d'òocits presenten unes taxes d'embaràs similars a les de la població general.

De l'estudi 4:

6.- La dotació de DNAm dels òocits de la dona estèril infectada pel virus de la immunodeficiència humana adquirida en TARGA és inferior a la dona estèril no infectada.

Conclusions

Aquest fenomen pot explicar, en part, els mals resultats reproductius de la dona infectada pel VIH.

De l'estudi 5:

7.- La incidència de preeclàmpsia i mort fetal intrauterina es manté estable en la població general en el període d'estudi. Els factors relacionats amb l'aparició de preeclàmpsia i mort intrauterina són la gestació múltiple, la infecció VIH, la multiparitat i el tabac.

8.- La incidència de preeclàmpsia i mort fetal en la població de dones infectades pel VIH és superior a la població general i s'incrementa de forma brusca a partir de la generalització del TARGA en la gestant. Els factors associats a aquests mals resultats obstètrics són l'ús de TARGA abans de l'embaràs i el tabac.

9.- No s'ha trobat cap fàrmac o família de fàrmacs concrets relacionats amb els mals resultats obstètrics. El nivell d'insulina i selectina P de les dones infectades pel virus de la immunodeficiència humana adquirida que desenvolupen preeclàmpsia és superior a les que no la desenvolupen, la qual cosa suggereix que realment es tracta d'una preeclàmpsia.

De l'estudi 6:

10.- El cribratge combinat bioquímic i ecogràfic d'anomalies cromosòmiques, és útil en la població de dones infectades pel VIH i permet limitar els procediments invasius.

11.- L'amniocentesi realitzada a les dones infectades pel virus de la immunodeficiència humana que presenten un risc elevat d'anomalies cromosòmiques és un procediment segur.

De l'estudi 7:

12.- Les embarassades infectades pel VIH accepten majoritàriament el part vaginal en els casos seleccionats. Permetre el part vaginal en els casos seleccionats no incrementa el risc de transmissió vertical del VIH.

BIBLIOGRAFIA

A red L-shaped graphic element consisting of two parallel lines. The vertical line is on the right, and the horizontal line is at the bottom. The word 'BIBLIOGRAFIA' is centered between these lines.

Adesiyun AG, Ameh CA, Eka A. Hysterosalpingographic tubal abnormalities and HIV infection among black women with tubal infertility in sub-Saharan Africa *Gynecol Obstet Invest* 2008;66(2):119-22

Alcamí J, Bermejo M, García J, González N, González M, Coyras T, Mateos E, Calonge E, López-Huertas MR; Pérez-Olmeda MT, Bedoya LM, Palao O. "Inmunopatología del sida". En: *Guía Práctica del SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento*, 9ª edición. Barcelona: Elsevier Doyma, S.L. 2007. p 21-48

Anastos K, Shi Q, French AL, Levine A, Greenblatt RM, Williams C, DeHovitz J, Delapenha R, Hoover DR. Total lymphocyte count, hemoglobin, and delayed-type hypersensitivity as predictors of death and AIDS illness in HIV-1-infected women receiving highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35(4):383-92

Angel JB, Khaliq Y, Monpetit ML, Cameron DW, Gallicano K. An argument for routine therapeutic drug monitoring of HIV-1 protease inhibitors during pregnancy. *AIDS* 2001;15(3):417-9.

Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet* 2008;372(9635):293-9

Avidan MS, Groves P, Blott M, Welch J, Leung T, Pozniak A, Davies E, Ball C, Zuckerman M. Low complication rate associated with cesarean section under spinal anesthesia for HIV-1-infected women on antiretroviral therapy. *Anesthesiology* 2002;97(2):320-4

Baccetti B, Benedetto A, Collodel G, Crisá N, di Caro A, Garbuglia AR, Piomboni P. Failure of HIV-1 to infect human oocytes directly. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999;21(5):355-61

Bansil P, Jamieson DJ, Posner SF, Kourtis AP. Hospitalizations of pregnant HIV-infected women in the United States in the era of highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Womens Health (Larchmt)* 2007;16(2):159-62

Barragan P, Fisac C, Podzamczar D. Switching strategies to improve lipid profile and morphologic changes. *AIDS Rev* 2006;8(4):191-203

Barreiro P, del Romero J, Leal M, Hernando V, Asencio R, de Mendoza C, Labarga P, Núñez M, Ramos JT, González-Lahoz J, Soriano V; Spanish HIV-Discordant Study Group. Natural pregnancies in HIV-serodiscordant couples receiving successful antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43(3):324-6.

Barreiro P, Castilla JA, Labarga P, Soriano V. Is natural conception a valid option for HIV-serodiscordant couples? *Hum Reprod* 2007;22(9):2353-8

Barret B, Tardieu M, Rustin P, Lacroix C, Chabrol B, Desguerre I, Dollfus C, Mayaux MJ, Blanche S; French Perinatal Cohort Study Group. Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants: clinical screening in a large prospective cohort. *AIDS* 2003;17(12):1769-85

Bibliografía

Baylor MS, Johann-Liang R. Hepatotoxicity associated with nevirapine use. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35(5):538-9

Bersoff-Matcha SJ, Miller WC, Aberg JA, van Der Horst C, Hamrick Jr HJ, Powderly WG, Mundy LM. Sex differences in nevirapine rash. *Clin Infect Dis* 2001;32(1):124-9

Best BM, Capparelli EV. Implications of gender and pregnancy for antiretroviral drug dosing. *Curr Opin HIV AIDS* 2008;3(3):277-82

Biglia A, Blanco JL, Martínez E, Domingo P, Casamitjana R, Sarnat M, Milinkovic A, Garcia M, Laguno M, Leon A, Larrousse M, Lonca M, Mallolas J, Gatell JM. Gynecomastia among HIV-infected patients is associated with hypogonadism: a case-control study. *Clin Infect Dis* 2004;39(10):1514-9.

Blanch J, Martínez E, Rousaud A, Blanco JL, García-Viejo MA, Peri JM, Mallolas J, De Lazzari E, De Pablo J, Gatell JM. Preliminary data of a prospective study on neuropsychiatric side effects after initiation of efavirenz. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27(4):336-43

Blanche S, Tardieu M, Rustin P, Slama A, Barret B, Firtion G, Ciraru-Vigneron N, Lacroix C, Rouzioux C, Mandelbrot L, Desguerre I, Rötig A, Mayaux MJ, Delfraissy JF. Persistent mitochondrial dysfunction and perinatal exposure to antiretroviral nucleoside analogues. *Lancet* 1999;354(9184):1084-9

Blanco JL, Mallolas J, Gatell JM. "Historia natural, clasificación y pronóstico de la infección por VIH-1" En: *Guía Práctica del SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento*, 9ª edició. Barcelona: Elsevier Doyma, S.L. 2007. p 49-62

Boer K, Nellen JF, Patel D, Timmermans S, Tempelman C, Wibaut M, Sluman MA, van der Ende ME, Godfried MH. The AmRo study: pregnancy outcome in HIV-1-infected women under effective highly active antiretroviral therapy and a policy of vaginal delivery. *BJOG* 2007;114(2):148-55

Bolhaar MG, Karstaedt AS. A high incidence of lactic acidosis and symptomatic hyperlactatemia in women receiving highly active antiretroviral therapy in Soweto, South Africa. *Clin Infect Dis* 2007; 45:254-60

Borrell A, Casals E, Fortuny A, Farre MT, Gonce A, Sanchez A, Soler A, Cararach V, Vanrell JA. First-trimester screening for trisomy 21 combining biochemistry and ultrasound at individually optimal gestational ages. An interventional study. *Prenat Diagn* 2004;24(7):541-5

Briand N, Mandelbrot L, Le Chenadec J, Tubiana R, Teglas JP, Faye A, Dollfus C, Rouzioux C, Blanche S, Warszawski J; ANRS French Perinatal Cohort. No relation between in-utero exposure to HAART and intrauterine growth retardation. *AIDS* 2009;23(10):1235-43

Brinkman K, ter Hofstede HJ, Burger DM, Smeitink JA, Koopmans PP. Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: mitochondrial toxicity as common pathway. *AIDS* 1998;12(14):1735-44

British HIV Association. Guidelines for the management of HIV infection in pregnant women and the prevention of mother-to-child transmission. www.bhiva.org 2005

Brizot ML, Snijders RJ, Bersinger NA, Kuhn P, Nicolaides KH. Maternal serum pregnancy-associated plasma protein A and fetal nuchal translucency thickness for the prediction of fetal trisomies in early pregnancy. *Obstet Gynecol* 1994;84(6):918-22.

Brocklehurst P, French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105(8):836-48

Brossard P, Boulvain M, Coll O, Barlow P, Aebi-Popp K, Bischof P, Martinez de Tejada B; Swiss HIV Cohort Study; Swiss HIV Mother and Child Cohort Study. Is screening for fetal anomalies reliable in HIV-infected pregnant women? A multicentre study. *AIDS* 2008;22(15):2013-7.

Brown TT, Qaqish RB. Response to Berg et al. 'Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review'. *AIDS* 2007;21(13):1830-1

Bucceri AM, Somigliana E, Vignali M. Early invasive diagnostic techniques during pregnancy in HIV-infected women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001;80(1):82-3

Bujan L, Hollander L, Coudert M, Gilling-Smith C, Vucetich A, Guibert J, Vernazza P, Ohl J, Weigel M, Englert Y, Semprini AE; CREAThE network. Safety and efficacy of sperm washing in HIV-1-serodiscordant couples where the male is infected: results from the European CREAThE network. *AIDS* 2007;21(14):1909-14

Cordaro JA, Morse GD, Bartos L, Gugino LJ, Maliszewski M, Colomaio R, Shelton M, O'Donnell A, Hewitt R. Zidovudine pharmacokinetics in HIV-positive women during different phases of the menstrual cycle. *Pharmacotherapy* 1993;13:369-377

Carosi G, Nasta P, Fiore S, Matteelli A, Cauda R, Ferrazzi E, Tamburrini E, Savasi V, Bini T, Ravizza M, Bucceri A, Vichi F, Murri R, Mazzotta F, d'Arminio Monforte A; Italian Working Group for the Women with HIV Management Guidelines. Women facing HIV. Key question on women with HIV infection: Italian consensus workshop. *Infection* 2009;37(2):168-78

CDC 2008. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. November 2008. <http://aidsinfo.nih.gov>

Centre d'Estudis Epidemiològics sobre la Sida de Catalunya (CEESCAT). Registre de casos de SIDA a Catalunya. Informe primer semestre 2009. <http://www.ceescat.org>

Clark RA, Mulligan K, Stamenovic E, Chang B, Watts H, Andersen J, Squires K, Benson C. Frequency of anovulation and early menopause among women enrolled in selected adult AIDS clinical trials group studies. *J Infect Dis* 2001;184(10):1325-7

Coll O, Hernandez M, Boucher CA, Fortuny C, de Tejada BM, Canet Y, Caragol I, Tijnagel J, Bertran JM, Espanol T. Vertical HIV-1 transmission correlates with a high maternal viral load at delivery. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997;14(1):26-30

Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, VanDyke R, Bey M, Shearer W, Jacobson RL, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human

Bibliografia

immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331(18):1173-80

Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C, Hayani K, Handelsman E, Smeriglio V, Hoff R, Blattner W; Women and Infants' Transmission Study Group. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;29(5):484-94

Cotter AM, Garcia AG, Duthely ML, Luke B, O'Sullivan MJ. Is antiretroviral therapy during pregnancy associated with an increased risk of preterm delivery, low birth weight, or stillbirth? *J Infect Dis* 2006;193(9):1195-201

Cotton DJ, Finkelstein DM, He W, Feinberg J. Determinants of accrual of women to a large, multicenter clinical trials program of human immunodeficiency virus infection. The AIDS Clinical Trials Group. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993;6(12):1322-8

Crum-Cianflone NF, Bavaro M, Hale B, Amling C, Truett A, Brandt C, Pope B, Furtek K, Medina S, Wallace MR. Erectile dysfunction and hypogonadism among men with HIV. *AIDS Patient Care STDS* 2007;21(1):9-19

Currier JS. Sex differences in antiretroviral therapy toxicity: lactic acidosis, stavudine, and women. *Clin Infect Dis* 2007;45(2):261-2

DAD Study Group, Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr W, Thiébaud R, De Wit S, Kirk O, Fontas E, Law MG, Phillips A, Lundgren JD. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2007;356(17):1723-35

Davies G, Wilson RD, Désilets V, Reid GJ, Shaw D, Summers A, Wyatt P, Young D; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Amniocentesis and women with hepatitis B, hepatitis C, or human immunodeficiency virus. *J Obstet Gynaecol Can* 2003;25(2):145-48, 149-52

Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179(5):1359-75

Delfraissy J. HIV management in 2005. *Presse Med* 2005;34(10suppl):1S5-6

de Mendoza C, Sanchez-Conde M, Ribera E, Domingo P, Soriano V. Could mitochondrial DNA quantitation be a surrogate marker for drug mitochondrial toxicity?. *AIDS Rev* 2004;6(3):169-80

de Vincenzi I. A longitudinal study of human immunodeficiency virus transmission by heterosexual partners. European Study Group on Heterosexual Transmission of HIV. *N Engl J Med* 1994;331(6):341-6

de Vincenzi I, Jadand C, Couturier E, Brunet JB, Gallais H, Gastaut JA, Goujard C, Deveau C, Meyer L. Pregnancy and contraception in a French cohort of HIV-infected women. SEROCO Study Group. *AIDS* 1997;11(3):333-8.

Donegan E, Lee H, Operskalski EA, Shaw GM, Kleinman SH, Busch MP i col. Transfusion transmission of retroviruses: human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus type 1. *Transfusion*. 1994 ;34(6):478-83

Dorenbaum A, Cunningham CK, Gelber RD, Culnane M, Mofenson L, Britto P, Rekacewicz C, Newell ML, Delfraissy JF, Cunningham-Schrader B, Mirochnick M, Sullivan JL; International PACTG 316 Team. Two-dose intrapartum/newborn nevirapine and standard antiretroviral therapy to reduce perinatal HIV transmission: a randomized trial. *JAMA* 2002;288(2):189-98

Dorrell L, Hessel AJ, Wang M, Whittle H, Sabally S, Rowland-Jones S, Burton DR, Parren PW. Absence of specific mucosal antibody responses in HIV-exposed uninfected sex workers from the Gambia. *AIDS* 2000;14(9):1117-22.

Doyle NM, Levison JE, Gardner MO. Rapid HIV versus enzyme-linked immunosorbent assay screening in a low-risk Mexican American population presenting in labor: a cost-effectiveness analysis *Am J Obstet Gynecol* 2005;193(3 Pt 2):1280-5

Duarte G, Read JS, Gonin R, Freimanis L, Ivalo S, Melo VH, Marcolin A, Mayoral C, Ceriotto M, de Souza R, Cardoso E, Harris DR; NISDI Perinatal Study Group. Mode of delivery and postpartum morbidity in Latin American and Caribbean countries among women who are infected with human immunodeficiency virus-1: the NICHD International Site Development Initiative (NISDI) Perinatal Study. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195(1):215-29

Dube MP. Disorders of glucose metabolism in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2000;31(6):1467-75

Dunn DT, Newell ML, Ades AE, Peckham CS. Risk of human immunodeficiency virus type 1 transmission through breastfeeding. *Lancet* 1992;340(8819):585-8

Einstein FH, Wright RL, Trentacoste S, Gross S, Merkatz IR, Bernstein PS. The impact of protease inhibitors on maternal serum screening analyte levels in pregnant women who are HIV positive. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(3):1004-8

Ekoukou D, Khuong-Josses MA, Ghibaudo N, Mechali D, Rotten D. Amniocentesis in pregnant HIV-infected patients. Absence of mother-to-child viral transmission in a series of selected patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008;140(2):212-7.

Ellis J, Williams H, Graves W, Lindsay MK. Human immunodeficiency virus infection is a risk factor for adverse perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186(5):903-6.

Englert Y, Lesage B, Van Vooren JP, Liesnard C, Place I, Vannin AS, Emiliani S, Delbaere A. Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral diseases. *Hum Reprod Update* 2004;10(2):149-62

European Collaborative Study. Maternal viral load and vertical transmission of HIV-1: an important factor but not the only one. *AIDS* 1999;13(11):1377-85

European Collaborative Study and the Swiss Mother+Child HIV Cohort Study. Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy. *AIDS* 2000;14:2913-2920.

European Collaborative Study. Pregnancy-related changes in the longer-term management of HIV-infected women in Europe. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;111(1):3-8

Bibliografía

European Collaborative Study. Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HAART-treated HIV-infected women in Europe. *AIDS* 2004;17:2337-2339.

European Collaborative Study. Mother-to-child transmission of HIV Infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2005;40: 458-465

European Collaborative Study. The mother-to-child HIV transmission epidemic in Europe: evolving in the East and established in the West. *AIDS* 2006;20(10):1419-27

European HIV in Obstetrics Group. Higher rates of post-partum complications in HIV infected than in uninfected women irrespective of mode of delivery. *AIDS* 2004;18:933-938

Falcó V, Rodríguez D, Ribera E, Martínez E, Miró JM, Domingo P, Diazaraque R, Arribas JR, González-García JJ, Montero F, Sánchez L, Pahissa A. Severe nucleoside-associated lactic acidosis in human immunodeficiency virus-infected patients: report of 12 cases and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2002;34(6):838-46

Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, Gottlieb MS, Volberding PA, Laskin OL, Leedom JM, Groopman JE, Mildvan D, Schooley RT, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1987;317(4):185-91

Fletcher CV, Testa MA, Brundage RC, Chesney MA, Haubrich R, Acosta EP, Martinez A, Jiang H, Gulick RM. Four measures of antiretroviral medication adherence and virologic response in AIDS clinical trials group study 359. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(3):301-6

Frank KA, Buchmann EJ, Schackis RC. Does human immunodeficiency virus infection protect against preeclampsia-eclampsia?. *Obstet Gynecol* 2004;104(2):238-42

Friedrich E, Habedank M, Cooreman G, Etzrodt A. Diagnostic possibilities of the function of the fetal thyroid gland by amniocentesis (author's transl). *Z Geburtshilfe Perinatol* 1981;185(2):96-9.

Friis-Møller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, Thiébaud R, Morfeldt L, De Wit S, Pradier C, Calvo G, Law MG, Kirk O, Phillips AN, Lundgren JD; Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;349(21):1993-2003.

Frodsham LC, Boag F, Barton S, Gilling-Smith C. Human immunodeficiency virus infection and fertility care in the United Kingdom: demand and suplí. *Fertil Steril* 2006;85(2):285-9

Galli M, Ridolfo AL, Adorni F, Cappelletti A, Morelli P, Massetto B, Piazza M, Gianelli E, Vaccarezza M, Gervasoni C, Moroni M. Correlates of risk of adipose tissue alterations and their modifications over time in HIV-1-infected women treated with antiretroviral therapy *Antivir Ther* 2003;8(4):347-54

Galli L, Puliti D, Chiappini E, Gabiano C, Tovo PA, Pezzotti P, de Martino M; Writing Committee. Lower mother-to-child HIV-1 transmission in boys is independent of type of delivery and antiretroviral prophylaxis: the Italian Register for HIV Infection in Children. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(4):479-85

Garrido N, Meseguer M, Bellver J. Reproductive issues for persons with HIV. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(5):1489

Geddes R, Knight S, Moosa MY, Reddi A, Uebel K, Sunpath H. A high incidence of nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI)-induced lactic acidosis in HIV-infected patients in a South African context. *S Afr Med J* 2006; 96:722-4

Gersten M, Chapman S, Farnsworth A. the safety and efficacy of Viracept (nelfinavir mesylate) in female patients who participated in pivotal II/III double blind randomized controlled trials. Program and abstracts of the 1st National Conference on Women and HIV; May 4-8, 1997; Pasadena, California. Abstract 304.1.

Gesida. Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. Recommendations from the GESIDA/Spanish AIDS Plan regarding antiretroviral treatment in adults with human immunodeficiency virus infection (update February 2009). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27(4):222-35

Giaquinto C, De Romeo A, Giacomet V, Rampon O, Ruga E, Burlina A, De Rossi A, Sturkenboom M, D'Elia R. Lactic acid levels in children perinatally treated with antiretroviral agents to prevent HIV transmission. *AIDS* 2001;15(8):1074-5

Gingelmaier A, Grubert TA, Kost BP, Setzer B, Lebrecht D, Mylonas I, Mueller-Hoecker J, Jeschke U, Hiedl S, Friese K, Walker UA. Mitochondrial toxicity in HIV type-1-exposed pregnancies in the era of highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther* 2009;14(3):331-8

Giordano TP, Wright JA, Hasan MQ, White AC Jr, Graviss EA, Visnegarwala F. Do sex and race/ethnicity influence CD4 cell response in patients who achieve virologic suppression during antiretroviral therapy?. *Clin Infect Dis* 2003;37(3):433-7

Giorlandino C, Gambuzza G, D'Alessio P, Santoro ML, Gentili P, Vizzone A. Blood contamination of amniotic fluid after amniocentesis in relation to placental location. *Prenat Diagn* 1996;16(2):180-2.

Gray GE, McIntyre JA. Effect of HIV on women. *AIDS Read* 2006;16(7):365-8, 373-7

Gilling-Smith C. HIV prevention. Assisted reproduction in HIV-discordant couples. *AIDS Read* 2000;10(10):581-7.

Gray RH, Wawer MJ, Serwadda D, Sewankambo N, Li C, Wabwire-Mangen F, Paxton L, Kiwanuka N, Kigozi G, Konde-Lule J, Quinn TC, Gaydos CA, McNairn D. Population-based study of fertility in women with HIV-1 infection in Uganda. *Lancet* 1998;351(9096):98-103.

Grosch-Woerner I, Puch K, Maier RF, Niehues T, Notheis G, Patel D, Casteleyn S, Feiterna-Sperling C, Groeger S, Zaknun D; Multicenter Interdisciplinary Study Group Germany/Austria. Increased rate of prematurity associated with antenatal antiretroviral

Bibliografía

therapy in a German/Austrian cohort of HIV-1-infected women. *HIV Med* 2008;9(1):6-13.

Gross S, Castillo W, Crane M, Espinosa B, Carter S, DeVeaux R, Salafia C. Maternal serum alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin levels in women with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188(4):1052-6.

Grubert TA, Reindell D, Kästner R, Lutz-Friedrich R, Belohradsky BH, Dathe O. Complications after caesarean section in HIV-1-infected women not taking antiretroviral treatment. *Lancet* 1999;354(9190):1612-3

Guay LA, Musoke P, Fleming T, Bagenda D, Allen M, Nakabiito C, Sherman J, Bakaki P, Ducar C, Deseyve M, Emel L, Mirochnick M, Fowler MG, Mofenson L, Miotti P, Dransfield K, Bray D, Mmiro F, Jackson JB. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* 1999;354(9181):795-802

Gupta SK. Tenofovir-associated Fanconi syndrome: review of the FDA adverse event reporting system. *AIDS Patient Care STDS* 2008;22(2):99-103

Hasselrot K, Bratt G, Hirbod T, Saberg P, Ehnlund M, Lopalco L, Sandstrom E, Broliden K. Orally exposed uninfected individuals have systemic anti-HIV responses associating with partners' viral load. *AIDS* 2009; Sep 23.

Havlir DV, Richman DD. Viral dynamics of HIV: implications for drug development and therapeutic strategies. *Ann Intern Med* 1996;124(11):984-94.

Hawkins D, Blott M, Clayden P, de Ruiter A, Foster G, Gilling-Smith C, Gosrani B, Lyall H, Mercey D, Newell ML, O'Shea S, Smith R, Sunderland J, Wood C, Taylor G; BHIVA Guidelines Writing Committee. Guidelines for the management of HIV infection in pregnant women and the prevention of mother-to-child transmission of HIV. *HIV Med* 2005;6 Suppl 2:107-48

Hernández-Díaz S, Toh S, Cnattingius S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. *BMJ* 2009;338:b2255

Hieshima K, Kawasaki Y, Hanamoto H, Nakayama T, Nagakubo D, Kanamaru A, Yoshie O. CC chemokine ligands 25 and 28 play essential roles in intestinal extravasation of IgA antibody-secreting cells. *J Immunol* 2004;173(6):3668-75

Hinz S, McCormack D, van der Spuy ZM. Endocrine function in HIV-infected women. *Gynecol Endocrinol* 2002;16(1):33-8

Hirbod T, Kaul R, Reichard C, Kimani J, Ngugi E, Bwayo JJ, Nagelkerke N, Hasselrot K, Li B, Moses S; Kibera HIV Study Group, MacDonald KS, Broliden K. HIV-neutralizing immunoglobulin A and HIV-specific proliferation are independently associated with reduced HIV acquisition in Kenyan sex workers. *AIDS* 2008;22(6):727-35

Hitti J, Frenkel LM, Stek AM, Nachman SA, Baker D, Gonzalez-Garcia A, Provisor A, Thorpe EM, Paul ME, Foca M, Gandia J, Huang S, Wei LJ, Stevens LM, Watts DH, McNamara J; PACTG 1022 Study Team. Maternal toxicity with continuous nevirapine in pregnancy: results from PACTG 1022. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;36(3):772-6

Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373(6510):123-6

Ibdah JA, Yang Z, Bennett MJ. Liver disease in pregnancy and fetal fatty acid oxidation defects. *Mol Genet Metab*. 2000 Sep-Oct;71(1-2):182-9

Innes KE, Wimsatt JH. Pregnancy-induced hypertension and insulin resistance: evidence for a connection. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78:263–284.

Ioannidis JP, Abrams EJ, Ammann A, Bulterys M, Goedert JJ, Gray L, Korber BT, Mayaux MJ, Mofenson LM, Newell ML, Shapiro DE, Teglas JP, Wilfert CM. Perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 by pregnant women with RNA virus loads <1000 copies/ml. *J Infect Dis* 2001;183(4):539-45

Iribarren JA, Ramos JT, Guerra L, Coll O, de José MI, Domingo P, Fortuny C, Miralles P, Parras F, Peña JM, Rodrigo C, Vidal R. Prevention of vertical transmission and treatment of infection caused by the human immunodeficiency virus in the pregnant woman. Recommendations of the Study Group for AIDS, Infectious Diseases, and Clinical Microbiology, the Spanish Pediatric Association, the National AIDS Plan and the Spanish Gynecology and Obstetrics Society. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001;19(7):314-35

Jamieson DJ, Read JS, Kourtis AP, Durant TM, Lampe MA, Dominguez KL. Cesarean delivery for HIV-infected women: recommendations and controversias. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197(3 Suppl):S96-100

Jennes W, Sawadogo S, Kobravi-Dème S, Vuylsteke B, Maurice C, Roels TH, Chorba T, Nkengasong JN, Kestens L. Cellular human immunodeficiency virus (HIV)-protective factors: a comparison of HIV-exposed seronegative female sex workers and female blood donors in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Infect Dis* 2003;187(2):206-14

Joy S, Poi M, Hughes L, Brady MT, Koletar SL, Para MF, Fan-Havard P. Third-trimester maternal toxicity with nevirapine use in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2005;106(5 Pt 1):1032-8

Justman JE, Benning L, Danoff A, Minkoff H, Levine A, Greenblatt RM, Weber K, Piessens E, Robison E, Anastos K. Protease inhibitor use and the incidence of diabetes mellitus in a large cohort of HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32(3):298-302.

Kaaja R, Laivuori H, Laakso M, Tikkanen MJ, Ylikorkala O. Evidence of a state of increased insulin resistance in preeclampsia. *Metabolism* 1999; 48:892–896

Kaida A, Lima VD, Andia I, Kabakyenga J, Mbabazi P, Emenyonu N, Patterson TL, Hogg RS, Bangsberg DR. The WHOMEN's scale (Women's HAART Optimism Monitoring and Evaluation Scale v.1) and the association with fertility intentions and sexual behaviours among HIV-positive women in Uganda. *AIDS Behav* 2009;13 Suppl 1:72-81

Kaplan EH, Heimer R. A model-based estimate of HIV infectivity via needle sharing. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992; 5:1116-8.

Bibliografia

Kaslow RA, Dorak T, Tang JJ. Influence of host genetic variation on susceptibility to HIV type 1 infection. *J Infect Dis* 2005; 191(Suppl 1):S68–77.

Kathleen E. Updated on the management of HIV-infected women. A: HIV/AIDS Annual Updated 2005. Clinical Care Options HIV. California, 2005. p157-184

Kaul R, Plummer FA, Kimani J, Dong T, Kiama P, Rostron T, Njagi E, MacDonald KS, Bwayo JJ, McMichael AJ, Rowland-Jones SL. HIV-1-specific mucosal CD8+ lymphocyte responses in the cervix of HIV-1-resistant prostitutes in Nairobi. *J Immunol* 2000;164(3):1602-11

Kittinunvorakoon C, Morris MK, Neeyapun K, Jetsawang B, Buehring GC, Hanson CV. Mother to child transmission of HIV-1 in a Thai population: role of virus characteristics and maternal humoral immune response. *J Med Virol*. 2009 May;81(5):768-78

Koning FA, Otto SA, Hazenberg MD, Dekker L, Prins M, Miedema F, Schuitemaker H. Low-level CD4+ T cell activation is associated with low susceptibility to HIV-1 infection. *J Immunol* 2005;175(9):6117-22.

Kosel BW, Beckerman KP, Hayashi S, Homma M, Aweeka FT. Pharmacokinetics of nelfinavir and indinavir in HIV-1-infected pregnant women. *AIDS* 2003;17(8):1195-9

Kovacs A, Wasserman SS, Burns D, Wright DJ, Cohn J, Landay A, Weber K, Cohen M, Levine A, Minkoff H, Miotti P, Palefsky J, Young M, Reichelderfer P; DATRI Study Group; WIHS Study Group. Determinants of HIV-1 shedding in the genital tract of women. *Lancet* 2001;358(9293):1593-601.

Kourtis AP, Bansil P, McPheeters M, Meikle SF, Posner SF, Jamieson DJ. Hospitalizations of pregnant HIV-infected women in the USA prior to and during the era of HAART, 1994-2003. *AIDS* 2006;20(14):1823-31

Kourtis AP, Schmid CH, Jamieson DJ, Lau J. Use of antiretroviral therapy in pregnant HIV-infected women and the risk of premature delivery: a meta-analysis. *AIDS* 2007;21(5):607-15

Lallemant M, Jourdain G, Le Coeur S, Kim S, Koetsawang S, Comeau AM, Phoolcharoen W, Essex M, McIntosh K, Vithayasai V. A trial of shortened zidovudine regimens to prevent mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1. Perinatal HIV Prevention Trial (Thailand) Investigators. *N Engl J Med* 2000;343(14):982-91

Lambert JS, Watts DH, Mofenson L, Stiehm ER, Harris DR, Bethel J, Whitehouse J, Jimenez E, Gandia J, Scott G, O'Sullivan MJ, Kovacs A, Stek A, Shearer WT, Hammill H, van Dyke R, Maupin R, Silio M, Fowler MG. Risk factors for preterm birth, low birth weight, and intrauterine growth retardation in infants born to HIV-infected pregnant women receiving zidovudine. Pediatric AIDS Clinical Trials Group 185 Team. *AIDS* 2000;14(10):1389-99.

Lapaire O, Irion O, Koch-Holch A, Holzgreve W, Rudin C, Hoesli I; Swiss Mother and Child HIV Cohort Study. Increased peri- and post-elective cesarean section morbidity in women infected with human immunodeficiency virus-1: a case-controlled multicenter study. *Arch Gynecol Obstet* 2006;274(3):165-9

Ledergerber B, Furrer H, Rickenbach M, Lehmann R, Elzi L, Hirschel B, Cavassini M, Bernasconi E, Schmid P, Egger M, Weber R; Swiss HIV Cohort Study. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2007;45(1):111-9

Leroy V, Sakarovitch C, Cortina-Borja M, McIntyre J, Coovadia H, Dabis F, Newell ML, Saba J, Gray G, Ndugwa Ch, Kilewo Ch, Massawe A, Kituuka P, Okong P, Grulich A, von Briesen H, Goudsmit J, Biberfeld G, Haverkamp G, Weverling GJ, Lange JM; Ghent Group on HIV in Women and Children. Is there a difference in the efficacy of peripartum antiretroviral regimens in reducing mother-to-child transmission of HIV in Africa?. *AIDS* 2005;19(16):1865-75

Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-683

Lewden C, Chene G, Morlat P, Raffi F, Dupon M, Dellamonica P, Pellegrin JL, Katlama C, Dabis F, Leport C; Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les Hepatites Virales (ANRS) CO8 APROCO-COPILOTE Study Group; Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les Hepatites Virales (ANRS) CO3 AQUITAINE Study Group. HIV-infected adults with a CD4 cell count greater than 500 cells/mm³ on long-term combination antiretroviral therapy reach same mortality rates as the general population. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;46(1):72-7.

Lewis JJ, Ronsmans C, Ezeh A, Gregson S. The population impact of HIV on fertility in sub-Saharan Africa. *AIDS* 2004;18 Suppl 2:S35-43

Lewis JJ, Ronsmans C, Ezeh A, Gregson S. The population impact of HIV on fertility in sub-Saharan Africa. *AIDS* 2004;18 Suppl 2:S35-43

Liang K, Gui X, Zhang YZ, Zhuang K, Meyers K, Ho DD. A Case Series of 104 Women Infected with HIV-1 via Blood Transfusion Postnatally: High Rate of HIV-1 Transmission to Infants through Breast-Feeding. *J Infect Dis* 2009;200(5):682-6

Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, MacDonald ME, Stuhlmann H, Koup RA, Landau NR. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996;86(3):367-77

Lo Caputo S, Trabattoni D, Vichi F, Piconi S, Lopalco L, Villa ML, Mazzotta F, Clerici M. Mucosal and systemic HIV-1-specific immunity in HIV-1-exposed but uninfected heterosexual men. *AIDS* 2003;17(4):531-9.

Loko MA, Toure S, Dakoury-Dogbo N, Gabillard D, Leroy V, Anglaret X. Decreasing incidence of pregnancy by decreasing CD4 cell count in HIV-infected women in Côte d'Ivoire: a 7-year cohort study. *AIDS* 2005;19(4):443-5

Lopalco L, Pastori C, Cosma A, Burastero SE, Capiluppi B, Boeri E, Beretta A, Lazzarin A, Siccardi AG. Anti-cell antibodies in exposed seronegative individuals with HIV type 1-neutralizing activity. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000;16(2):109-15

Bibliografía

López S, Miró O, Martínez E, Pedrol E, Rodríguez-Santiago B, Milinkovic A, Soler A, García-Viejo MA, Nunes V, Casademont J, Gatell JM, Cardellach F. Mitochondrial effects of antiretroviral therapies in asymptomatic patients. *Antivir Ther* 2004;9(1):47-55

Lorentzen B, Birkeland KI, Endresen MJ, Henriksen T. Glucose intolerance in women with preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77:22–27

Lorenzi P, Spicher VM, Laubereau B, Hirschel B, Kind C, Rudin C, Irion O, Kaiser L. Antiretroviral therapies in pregnancy: maternal, fetal and neonatal effects. Swiss HIV Cohort Study, the Swiss Collaborative HIV and Pregnancy Study, and the Swiss Neonatal HIV Study. *AIDS* 1998;12(18):F241-7

Louis J, Landon MB, Gersnoviez RJ, Leveno KJ, Spong CY, Rouse DJ, Moawad AH, Varner MW, Caritis SN, Harper M, Wapner RJ, Miodovnik M, Carpenter M, Peaceman AM, O'Sullivan MJ, Sibai BM, Langer O, Thorp JM, Ramin SM, Mercer BM; Maternal-Fetal Medicine Units Network, National Institute of Child Health and Human Development. Perioperative morbidity and mortality among human immunodeficiency virus infected women undergoing cesarean delivery. *Obstet Gynecol* 2007;110(2 Pt 1):385-90

Machado ES, Hofer CB, Costa TT, Nogueira SA, Oliveira RH, Abreu TF, Evangelista LA, Farias IF, Mercadante RT, Garcia MF, Neves RC, Costa VM, Lambert JS. Pregnancy outcome in women infected with HIV-1 receiving combination antiretroviral therapy before versus after conception. *Sex Transm Infect* 2009;85(2):82-7

Maiques V, García-Tejedor A, Perales A, Navarro C. Intrapartum fetal invasive procedures and perinatal transmission of HIV. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1999;87(1):63-7

Maiques V, García-Tejedor A, Perales A, Córdoba J, Esteban RJ. HIV detection in amniotic fluid samples. Amniocentesis can be performed in HIV pregnant women?. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;108(2):137-41.

Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, Berrebi A, Moudoub-Jeanpetit Y, Bénifla JL, Ciraru-Vigneron N, Le Chenadec J, Blanche S, Delfraissy JF. Obstetric factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. SEROGEST French Pediatric HIV Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175(3 Pt 1):661-7

Mandelbrot L, Landreau-Mascaro A, Rekecewicz C, Berrebi A, Bénifla JL, Burgard M, Lachassine E, Barret B, Chaix ML, Bongain A, Ciraru-Vigneron N, Crenn-Hébert C, Delfraissy JF, Rouzioux C, Mayaux MJ, Blanche S; Agence Nationale de Recherches sur le SIDA (ANRS) 075 Study Group. Lamivudine-zidovudine combination for prevention of maternal-infant transmission of HIV-1. *JAMA* 2001;285(16):2083-93.

Mandelbrot L, Kermarrec N, Marcollet A, Lafanechère A, Longuet P, Chosidow D, Saada M. Case report: nucleoside analogue-induced lactic acidosis in the third trimester of pregnancy. *AIDS* 2003;17(2):272-3

Mandelbrot L, Jasseron C, Ekoukou D, Batallan A, Bongain A, Pannier E, Blanche S, Tubiana R, Rouzioux C, Warszawski J; ANRS French Perinatal Cohort (EPF). Amniocentesis and mother-to-child human immunodeficiency virus transmission in the

- Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les Hépatites Virales French Perinatal Cohort. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200(2):160.e1-9
- Manigart Y, Rozenberg S, Barlow P, Gerard M, Bertrand E, Delvigne A. ART outcome in HIV-infected patients. *Hum Reprod*. 2006 Nov;21(11):2935-40
- Martinet V, Manigart Y, Rozenberg S, Becker B, Gerard M, Delvigne A. Ovarian response to stimulation of HIV-positive patients during IVF treatment: a matched, controlled study. *Hum Reprod* 2006;21(5):1212-7
- Martinez E, Mocroft A, García-Viejo MA, Pérez-Cuevas JB, Blanco JL, Mallolas J, Bianchi L, Conget I, Blanch J, Phillips A, Gatell JM. Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. *Lancet* 2001;357(9256):592-8
- Martínez E, Larrousse M, Gatell JM. Cardiovascular disease and HIV infection: host, virus, or drugs?. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22(1):28-34.
- Mattar R, Amed AM, Lindsey PC, Sass N, Daher S. Preeclampsia and HIV infection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;117(2):240-1
- Mayer KH, Hogan JW, Smith D, Klein RS, Schuman P, Margolick JB, Korkontzelou C, Farzedegan H, Vlahov D, Carpenter CC; HIV Epidemiology Research Study (HERS) Group. Clinical and immunologic progression in HIV-infected US women before and after the introduction of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33(5):614-24
- May-Panloup P, Chretien MF, Malthiery Y, Reynier P. Mitochondrial DNA in the oocyte and the developing embryo. *Curr Top Dev Biol* 2007;77:51-83
- Merhi Z, Minkoff H. Rapid HIV screening for women in labor. *Expert Rev Mol Diagn* 2005;5(5): 673-9
- Miró O, López S, Martínez E, Rodríguez-Santiago B, Blanco JL, Milinkovic A, Miró JM, Nunes V, Casademont J, Gatell JM, Cardellach F. Short communication: reversible mitochondrial respiratory chain impairment during symptomatic hyperlactatemia associated with antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003;19(11):1027-32.
- Miró O (2), López S, Pedrol E, Rodríguez-Santiago B, Martínez E, Soler A, Milinkovic A, Casademont J, Nunes V, Gatell JM, Cardellach F. Mitochondrial DNA depletion and respiratory chain enzyme deficiencies are present in peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients with HAART-related lipodystrophy. *Antivir Ther* 2003;8(4):333-8
- Miró O, Villarroya J, Garrabou G, López S, Rodríguez de la Concepción M, Pedrol E, Martínez E, Giral M, Gatell JM, Cardellach F, Casademont J, Villarroya F. In vivo effects of highly active antiretroviral therapies containing the protease inhibitor nelfinavir on mitochondrially driven apoptosis. *Antivir Ther* 2005;10(8):945-51.
- Miyazawa M, Lopalco L, Mazzotta F, Lo Caputo S, Veas F, Clerici M; ESN Study Group. The 'immunologic advantage' of HIV-exposed seronegative individuals. *AIDS* 2009;23(2):161-75

Bibliografía

Moyle G. Metabolic issues associated with protease inhibitors. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45 Suppl 1:S19-26

Mocroft A, Gill MJ, Davidson W, Phillips AN. Are there gender differences in starting protease inhibitors, HAART, and disease progression despite equal access to care? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;24(5):475-82.

Mogtomo ML, Malieugoue LC, Djeppgang C, Wankam M, Moune A, Ngane AN. Incidence of cervical disease associated to HPV in human immunodeficiency infected women under highly active antiretroviral therapy. *Infect Agent Cancer* 2009;4:9

Moore AL, Kirk O, Johnson AM, Katlama C, Blaxhult A, Dietrich M, Colebunders R, Chiesi A, Lungren JD, Phillips AN; EuroSIDA group. Virologic, immunologic, and clinical response to highly active antiretroviral therapy: the gender issue revisited. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32(4):452-61

Moore RD, Cheever L, Keruly JC, Chaisson RE. Lack of sex difference in CD4 to HIV-1 RNA viral load ratio. *Lancet* 1999;353(9151):463-4

Moreno-Pérez O, Picó Alfonso AM, Portilla J. Hypogonadism, erectile dysfunction and endothelial dysfunction among HIV-infected men. *Med Clin (Barc)* 2009;132(8):311-21.

Nájera I, Richman DD, Olivares I, Rojas JM, Peinado MA, Perucho M i col. Natural occurrence of drug resistance mutations in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994;10(11):1479-88

Newell ML, Gray G, Bryson YJ. Prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 infection *AIDS* 1997;11 Suppl A:S165-72

Newell ML. Mechanisms and timing of mother-to-child transmission of HIV-1. *AIDS* 1998;12(8): 831-7

Nicolaidis KH, Bindra R, Heath V, Cicero S. One-stop clinic for assessment of risk of chromosomal defects at 12 weeks of gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002;12(1):9-18

Noguera A, Fortuny C, Muñoz-Almagro C, Sanchez E, Vilaseca MA, Artuch R, Pou J, Jimenez R. Hyperlactatemia in human immunodeficiency virus-uninfected infants who are exposed to antiretrovirals. *Pediatrics* 2004;114(5):e598-603

Ohl J, Partisani M, Wittemer C, Schmitt MP, Cranz C, Stoll-Keller F, Rongieres C, Bettahar-Lebugle K, Lang JM, Nisand I. Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience. *Hum Reprod* 2003;18(6):1244-9

Ohl J, Partisani M, Wittemer C, Lang JM, Viville S, Favre R. Encouraging results despite complexity of multidisciplinary care of HIV-infected women using assisted reproduction techniques. *Hum Reprod* 2005;20(11):3136-40

ONUSIDA. 2008 UNAIDS annual report.
http://data.unaids.org/pub/Report/2009/jc1736_2008_annual_report_en.pdf

Paintsil E, Andiman WA. Update on successes and challenges regarding mother-to-child transmission of HIV. *Curr Opin Pediatr* 2009;21(1):94-101

Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;338(13):853-60

Patel D, Thorne C, Fiore S, Newell ML; European Collaborative Study. Does highly active antiretroviral therapy increase the risk of congenital abnormalities in HIV-infected women? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(1):116-8

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(5255):1582-6

Petra Study Team. Efficacy of three short-course regimens of zidovudine and lamivudine in preventing early and late transmission of HIV-1 from mother to child in Tanzania, South Africa, and Uganda (Petra study): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;359(9313):1178-86.

Piacentini L, Biasin M, Fenizia C, Clerici M. Genetic correlates of protection against HIV infection: the ally within. *J Intern Med* 2008; 265: 110–124.

Piazzese JJ, Maranghi L, Cerekja A, Meloni P, Gioia S, Fumian L, Cosmi EV, Anceschi MM. Amniotic fluid lamellar body counts for the determination of fetal lung maturity: an update. *J Perinat Med* 2005;33(2):156-60

Poirier MC, Divi RL, Al-Harathi L, Olivero OA, Nguyen V, Walker B, Landay AL, Walker VE, Charurat M, Blattner WA; Women and Infants Transmission Study (WITS) Group. Long-term mitochondrial toxicity in HIV-uninfected infants born to HIV-infected mothers. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33(2):175-83

Poon LC, Kametas NA, Chelemen T, Leal A, Nicolaides KH. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach. *J Hum Hypertens* 2009 Jun 11

Poundstone KE, Chaisson RE, Moore RD. Differences in HIV disease progression by injection drug use and by sex in the era of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15(9):1115-23

Prins M, Meyer L, Hessel NA. Sex and the course of HIV infection in the pre- and highly active antiretroviral therapy eras. *AIDS* 2005;19(4):357-70

Pugliese P, Cuzin L, Cabié A, Poizot-Martin I, Allavena C, Duvivier C, El Guedj M, de la Tribonnière X, Valantin MA, Dellamonica P; Nadis Group. A large French prospective cohort of HIV-infected patients: the Nadis Cohort. *HIV Med* 2009;10(8):504-11

Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F, Meehan MO, Lutalo T, Gray RH. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* 2000;342(13):921-9.

Bibliografía

Reynier P, May-Panloup P, Chrétien MF, Morgan CJ, Jean M, Savagner F, Barrière P, Malthiery Y. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol Hum Reprod* 2001;7(5):425-9

Ricci E, Malacrida S, Zanchetta M, Montagna M, Giaquinto C, De Rossi A. Role of beta-defensin-1 polymorphisms in mother-to-child transmission of HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51(1):13-9.

Rodrigues A, Faucher P, Batallan A, Allal L, Legac S, Matheron S, Madelenat P. Mode of delivery of HIV-infected women: a retrospective study of 358 pregnancies followed in the same hospital between 2000 and 2004. *Gynecol Obstet Fertil* 2006;34(4):304-11

Ross A, Van der Paal L, Lubega R, Mayanja BN, Shafer LA, Whitworth J. HIV-1 disease progression and fertility: the incidence of recognized pregnancy and pregnancy outcome in Uganda. *AIDS* 2004;18(5):799-804

Rovio AT, Marchington DR, Donat S, Schuppe HC, Abel J, Fritsche E, Elliott DJ, Laippala P, Ahola AL, McNay D, Harrison RF, Hughes B, Barrett T, Bailey DM, Mehmet D, Jequier AM, Hargreave TB, Kao SH, Cummins JM, Barton DE, Cooke HJ, Wei YH, Wichmann L, Poulton J, Jacobs HT. Mutations at the mitochondrial DNA polymerase (POLG) locus associated with male infertility. *Nat Genet* 2001;29(3):261-2

Rowland BL, Vermillion ST, Soper DE. Scheduled cesarean delivery and the prevention of human immunodeficiency virus transmission: a survey of practicing obstetricians. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(2):327-31

Rowland-Jones SL, McMichael A. Immune responses in HIV-exposed seronegatives: have they repelled the virus? *Curr Opin Immunol* 1995;7(4):448-55.

Royce RA, Seña A, Cates W Jr, Cohen MS. Sexual transmission of HIV. *N Engl J Med* 1997;336(15):1072-8

Rubio R, Berenguer J, Miró JM, Antela A, Iribarren JA, González J, Guerra L, Moreno S, Arrizabalaga J, Clotet B, Gatell JM, Laguna F, Martínez E, Parras F, Santamaría JM, Tuset M, Viciano P. Recommendations of the Spanish AIDS Study Group (GESIDA) and the National Aids Plan (PNS) for antiretroviral treatment in adult patients with human immunodeficiency virus infection in 2002 *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20(6):244-303.

Safety and Toxicity of Individual Antiretroviral Agents in Pregnancy. 2009 http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/PerinatalGLSafetyTox_Sup.pdf

Salahuddin S, Lee Y, Vadnais M, Sachs BP, Karumanchi SA, Lim KH. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197(1):28.e1-6

Samleerat T, Thenin S, Jourdain G, Ngo-Giang-Huong N, Moreau A, Leechanachai P, Ithisuknanth J, Pagdi K, Wannarit P, Sangsawang S, Lallemand M, Barin F, Braibant M. Maternal neutralizing antibodies against a CRF01_AE primary isolate are associated with a low rate of intrapartum HIV-1 transmission. *Virology* 2009;387(2):388-94.

Santos TA, El Shourbagy S, St John JC. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. *Fertil Steril* 2006;85(3):584-91.

Sauer MV. Providing reproductive care to HIV-1 serodiscordant couples: final thoughts. *Am J Bioeth* 2003;3(2):W2

Scavalli CP, Mandelbrot L, Berrebi A, Batallan A, Cravello L, Pannier E, Hamrene K, Ciraru-Vigneron N, Faye A, Warszawski J; ANRS EPF. Twin pregnancy as a risk factor for mother-to-child transmission of HIV-1: trends over 20 years. *AIDS* 2007;21(8):993-1002

Schmidt MI, Duncan BB, Reichelt AJ, Branchtein L, Matos MC, Costa e Forti A, Spichler ER, Pousada JM, Teixeira MM, Yamashita T. Gestational diabetes mellitus diagnosed with a 2-h 75-g oral glucose tolerance test and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2001;24:1151–1155

Sedgh G, Larsen U, Spiegelman D, Msamanga G, Fawzi WW. HIV-1 disease progression and fertility in Dar es Salaam, Tanzania *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39(4):439-45

Seely EW, Solomon CG. Insulin resistance and its potential role in pregnancy-induced hypertension. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:2393–2398

SEGO: Infección por VIH y gestación. PROSEGO 2006. www.prosego.com

Semprini AE, Levi-Setti P, Bozzo M, Ravizza M, Taglioretti A, Sulpizio P, Albani E, Oneta M, Pardi G. Insemination of HIV-negative women with processed semen of HIV-positive partners. *Lancet* 1992;340(8831):1317-9

Semprini AE, Castagna C, Ravizza M, Fiore S, Savasi V, Muggiasca ML, Grossi E, Guerra B, Tibaldi C, Scaravelli G, et al. The incidence of complications after caesarean section in 156 HIV-positive women. *AIDS* 1995;9(8):913-7

Shaffer N, Chuachoowong R, Mock PA, Bhadrakom C, Siriwasin W, Young NL, Chotpitayasunondh T, Chearskul S, Roongpisuthipong A, Chinayon P, Karon J, Mastro TD, Simonds RJ. Short-course zidovudine for perinatal HIV-1 transmission in Bangkok, Thailand: a randomised controlled trial. Bangkok Collaborative Perinatal HIV Transmission Study Group. *Lancet* 1999;353(9155):773-80

Shapiro DE, Sperling RS, Mandelbrot L, Britto P, Cunningham BE. Risk factors for perinatal human immunodeficiency virus transmission in patients receiving zidovudine prophylaxis. Pediatric AIDS Clinical Trials Group protocol 076 Study Group. *Obstet Gynecol* 1999;94(6):897-908.

Shenfield F, Pennings G, Cohen J, Devroey P, Tarlatzis B, Sureau C; ESHRE ETHICS and LAW Task Force. Taskforce 8: ethics of medically assisted fertility treatment for HIV positive men and women. *Hum Reprod* 2004;19(11):2454-6

Sibai BM. Risk factors, pregnancy complications, and prevention of hypertensive disorders in women with pregravid diabetes mellitus. *J Matern Fetal Med.* 2000;9:62–65

Bibliografia

Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102(1):181-92

Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365(9461):785-99

Sibai BM. Hypertensive disorders of pregnancy: the United States perspective. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008;20(2):102-6

Si-Mohamed A, Kazatchkine MD, Heard I, Goujon C, Prazuck T, Aymard G, Cessot G, Kuo YH, Bernard MC, Diquet B, Malkin JE, Gutmann L, Bélec L. Selection of drug-resistant variants in the female genital tract of human immunodeficiency virus type 1-infected women receiving antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2000;182(1):112-22

Simonds RJ. HIV transmission by organ and tissue transplantation. *AIDS* 1993;7 Suppl 2:S35-8

Singh DK, Anastos K, Hoover DR, Burk RD, Shi Q, Ngendahayo L, Mutimura E, Cajigas A, Bigirimani V, Cai X, Rwamwejo J, Vuolo M, Cohen M, Castle PE. Human papillomavirus infection and cervical cytology in HIV-infected and HIV-uninfected Rwandan women. *J Infect Dis* 2009;199(12):1851-61

Skurnick JH, Palumbo P, DeVico A, Shacklett BL, Valentine FT, Merges M, Kamin-Lewis R, Mestecky J, Denny T, Lewis GK, Lloyd J, Praschunus R, Baker A, Nixon DF, Stranford S, Gallo R, Vermund SH, Loria DB. Correlates of nontransmission in US women at high risk of human immunodeficiency virus type 1 infection through sexual exposure. *J Infect Dis* 2002;185(4):428-38

Smith MW, Dean M, Carrington M, Huttley GA, O'Brien SJ. CCR5-delta 32 gene deletion in HIV-1 infected patients. *Lancet* 1997;350(9079):741

Sobel JD. Gynecologic infections in human immunodeficiency virus-infected women. *Clin Infect Dis* 2000;31(5):1225-33

Somigliana E, Bucceri AM, Tibaldi C, Alberico S, Ravizza M, Savasi V, Marini S, Matrone R, Pardi G; Italian Collaborative Study on HIV Infection in Pregnancy. Early invasive diagnostic techniques in pregnant women who are infected with the HIV: a multicenter case series. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193(2):437-42

Soriano V, Gutiérrez M, Bravo R. Serological diagnosis of HIV-1 infection. *Rev Clin Esp* 1994;194(7):558-67

Soriano A, Martínez C, García F, Plana M, Palou E, Lejeune M, Aróstegui JI, De Lazzari E, Rodríguez C, Barrasa A, Lorenzo JI, Alcamí J, del Romero J, Miró JM, Gatell JM, Gallart T. Plasma stromal cell-derived factor (SDF)-1 levels, SDF1-3'A genotype, and expression of CXCR4 on T lymphocytes: their impact on resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection and its progression. *J Infect Dis* 2002;186(7):922-31

Sorli Redó ML, Knobel Freud H, Montero M, Jericó Alba C, Guelar Grimberg A, Pedro-Botet Montoya J. Sex influence in lipodystrophy of HIV-infected patients and its association with cardiovascular risk factors. *An Med Interna* 2007;24(4):168-72

Spencer K, Spencer CE, Power M, Dawson C, Nicolaidis KH. Screening for chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum

biochemistry in a one-stop clinic: a review of three years prospective experience. *BJOG* 2003;110(3):281-6.

Sperling RS, Shapiro DE, Coombs RW, Todd JA, Herman SA, McSherry GD, O'Sullivan MJ, Van Dyke RB, Jimenez E, Rouzioux C, Flynn PM, Sullivan JL. Maternal viral load, zidovudine treatment, and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1996;335(22):1621-9

SPNS: Recomendaciones de la SPNS/GESIDA/SEGO/AEP para el seguimiento de la infección por el VIH con relación a la reproducción, el embarazo, y la prevención de la transmisión vertical. Diciembre 2007. www.gesida.seimc.org

SPNS: Secretaria del Plan Nacional sobre el Sida. Vigilancia epidemiológica del SIDA en España. Registro Nacional de casos de SIDA. Actualización a 31 de diciembre de 2008. Informe Semestral nº2, Año 2008. http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/pdf/SPNS_Informe_semestral.pdf

Stephenson JM, Griffioen A. The effect of HIV diagnosis on reproductive experience. Study Group for the Medical Research Council Collaborative Study of Women with HIV. *AIDS* 1996;10(14):1683-7

Stratton P, Tuomala RE, Abboud R, Rodriguez E, Rich K, Pitt J, Diaz C, Hammill H, Minkoff H. Obstetric and newborn outcomes in a cohort of HIV-infected pregnant women: a report of the women and infants transmission study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999;20(2):179-86

Stürmer M, Doerr HW, Berger A, Gute P. Is transmission of HIV-1 in non-viraemic serodiscordant couples possible? *Antivir Ther* 2008;13(5):729-32.

Terriou P, Auquier P, Chabert-Orsini V, Chinchole JM, Cravello L, Giorgetti C, Halfon P, Salzmann J, Roulier R. Outcome of ICSI in HIV-1-infected women. *Hum Reprod* 2005;20(10):2838-43

Tess BH, Rodrigues LC, Newell ML, Dunn DT, Lago TD. Breastfeeding, genetic, obstetric and other risk factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 in Sao Paulo State, Brazil. Sao Paulo Collaborative Study for Vertical Transmission of HIV-1. *AIDS* 1998;12(5):513-20.

Thadhani R, Ecker JL, Mutter WP, Wolf M, Smirnakis KV, Sukhatme VP, Levine RJ, Karumanchi SA. Insulin resistance and alterations in angiogenesis: additive insults that may lead to preeclampsia. *Hypertension* 2004;43(5):988-92

Thadhani R (2), Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, Ecker J, Karumanchi SA. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):770-5.

The European Mode of Delivery Collaboration. Elective caesarean section versus vaginal delivery in preventing vertical HIV-1 transmission: a randomised clinical trial. *Lancet* 1999;353:1035-9

Bibliografia

The International Perinatal HIV Group. Mode of delivery and vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis from fifteen prospective cohort studies. *N Engl J Med* 1999;340:977-87

The International Perinatal HIV group. Duration of ruptured membranes and vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis from fifteen prospective cohort studies. *AIDS* 2001;15:357-368

The Perinatal Safety Review Working Group. Nucleoside Exposure in the Children of HIV-Infected Women Receiving Antiretroviral Drugs: Absence of Clear Evidence for Mitochondrial Disease in Children Who Died Before 5 Years of Age in Five United States Cohorts. *JAIDS* 2000; 25:261-268

Thorne C, Newell ML. Treatment options for the prevention of mother-to-child transmission of HIV. *Curr Opin Investig Drugs* 2005;6(8): 804-11

Tuomala RE, Watts DH, Li D, Vajaranant M, Pitt J, Hammill H, Landesman S, Zorrilla C, Thompson B; Women and Infants Transmission Study. Improved obstetric outcomes and few maternal toxicities are associated with antiretroviral therapy, including highly active antiretroviral therapy during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38(4):449-73

Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and premature delivery in diagnosed HIV-infected women in the United Kingdom and Ireland. *AIDS* 2007;21(8):1019-26

Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, de Ruiter A, Lyall H, Tookey PA. Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000-2006. *AIDS* 2008;22(8):973-81.

Townsend CL, Willey BA, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and congenital abnormalities in infants born to HIV-infected women in the UK and Ireland, 1990-2007. *AIDS* 2009;23(4):519-24

Tudor D, Derrien M, Diomede L, Drillet AS, Houimel M, Moog C, Reynes JM, Lopalco L, Bomsel M. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from highly exposed but IgG-seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4(+) cell infection: an IgA gene and functional analysis. *Mucosal Immunol* 2009;2(5):412-26.

Umeh OC, Currier JS. Sex differences in pharmacokinetics and toxicity of antiretroviral therapy. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2006;2(2):273-83

van der Lugt J, Colbers A, Burger D. Clinical pharmacology of HIV protease inhibitors in pregnancy. *Curr Opin HIV AIDS*. 2008 Nov;3(6):620-626.

van der Spuy ZM. HIV and reproductive health: a South African experience. *Reprod Biomed Online* 2009;18 Suppl 2:3-10

van Leeuwen E, Wit FW, Repping S, Eeftinck Schattenkerk JK, Reiss P, van der Veen F, Prins JM. Effects of antiretroviral therapy on semen quality. *AIDS* 2008;22(5):637-42

Verloes A, Gillerot Y, Van Maldergem L, Schoos R, Herens C, Jamar M, Dideberg V, Lesenfants S, Koulischer L. Major decrease in the incidence of trisomy 21 at birth in south Belgium: mass impact of triple test?. *Eur J Hum Genet* 2001;9(1):1-4

Vernazza P, Hirschel B, Bernasconi E, Flepp M. HIV-positive individuals without additional sexually transmitted diseases (STD) and on effective anti-retroviral therapy are sexually non-infectious. *Schweizerische Ärztezeitung / Bulletin des médecins suisses / Bollettino dei medici svizzeri* / 2008; 89:5

Vernazza P (2). HAART improves quality of life: should we care about the quality of spermatozoa? *AIDS* 2008;22(5):647-8

Villamor E, Cnattingius S. Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet* 2006;368(9542):1164-70

Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, Canick JA. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988;297(6653):883-7

Warning: d4T plus ddI: warning for pregnant women. *AIDS Treat News* 2001;(358):8

Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Blanche S, Teglas JP, et al. Is intrapartum intravenous zidovudine still beneficial to prevent mother-to-child HIV-1 transmission? 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 22-25 February 2005, Boston, USA 2005, Abstract:781

Warszawski J, Tubiana R, Le Chenadec J, Blanche S, Teglas JP, Dollfus C, Faye A, Burgard M, Rouzioux C, Mandelbrot L; ANRS French Perinatal Cohort. Mother-to-child HIV transmission despite antiretroviral therapy in the ANRS French Perinatal Cohort *AIDS* 2008;22(2):289-99

Watts DH. Treating HIV during pregnancy: an update on safety issues. *Drug Saf* 2006;29(6):467-90

Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emini EA, Deutsch P i col. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373(6510):117-22

White DJ, Mital D, Taylor S, St John JC. Sperm mitochondrial DNA deletions as a consequence of long term highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15(8):1061-2

Williams SF, Keane-Tarchichi MH, Bettica L, Dieudonne A, Bardequez AD. Pregnancy outcomes in young women with perinatally acquired human immunodeficiency virus-1. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200(2):149.e1-5

Wimalasundera RC, Larbalestier N, Smith JH, de Ruiter A, McG Thom SA, Hughes AD, Poulter N, Regan L, Taylor GP. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *Lancet* 2002;360(9340):1152-4.

Wolf M, Sandler L, Munoz K, Hsu K, Ecker JL, Thadhani R. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1563-1568

Bibliografia

World Health Organization (WHO), United Nations Population Fund (UNFPA), Global Network of People Living with HIV (GNP+), International Community of Women Living with HIV (ICW), International Planned Parenthood Federation and Young. Advancing the sexual and reproductive health and human rights of people living with HIV. Amsterdam, Bali, Geneva, London, New York, August 2009. [www. UNAIDS.org](http://www.UNAIDS.org)

Yin M, Dobkin J, Brudney K, Becker C, Zadel JL, Manandhar M, Adesso V, Shane E. Bone mass and mineral metabolism in HIV+ postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2005;16(11):1345-52

Yudin MH, Prosen TL, Landers DV. Multiple-marker screening in human immunodeficiency virus-positive pregnant women: Screen positivity rates with the triple and quad screens. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(4):973-6.