

**MECANISMOS INMUNOREGULADORES IMPLICADOS EN LA
DISMINUCIÓN DE RESPUESTA VACUNAL EN DISTINTOS
ESCENARIOS MARCADOS POR LA INMUNOSENESCENCIA:
SUJETOS ANCIANOS Y SUJETOS CON INFECCIÓN POR VIH**



Tesis Doctoral

INÉS HERRERO FERNÁNDEZ

**Instituto de Biomedicina de Sevilla
(IBiS)**

**Hospital Universitario Virgen del
Rocío**

**Dpto. de Bioquímica Médica y
Biología Molecular e Inmunología**

Universidad de Sevilla

Directores

**D.ª YOLANDA MARÍA PACHECO LÓPEZ
D. MANUEL LEAL NOVAL**

Tutor

D. ANTONIO CARRILLO VICO

Facultad de Medicina

Dpto. de Bioquímica Médica y Biología Molecular e Inmunología

Doctorado en Biología Molecular y Biomedicina

D.ª Yolanda María Pacheco López, Investigadora estabilizada del Programa Nicolás Monardes del Sistema Andaluz de Salud.

D. Manuel Leal Noval, Profesor asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla.

D. Antonio Carrillo Vico, Profesor Titular del Departamento de Bioquímica Médica, Biología Molecular e Inmunología.

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado “Mecanismos inmunoreguladores implicados en la disminución de respuesta vacunal en distintos escenarios marcados por la inmunosenescencia: sujetos ancianos y sujetos con infección por VIH”, presentado por la Graduada en Biología **D.ª Inés Herrero Fernández**, ha sido realizado bajo nuestra dirección y asesoramiento en el Laboratorio de Inmunovirología del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). Concluido el trabajo experimental y bibliográfico, autorizamos la presentación y la defensa de esta Tesis Doctoral, para que sea juzgada por el tribunal correspondiente.



Fdo. Dra. Yolanda María Pacheco López



Fdo. Dr. Manuel Leal Noval



Fdo. Dr. Antonio Carrillo Vico

ABREVIATURAS

APC: Células presentadoras de antígenos

CCR5: Receptor de quimiocinas CCR5

CD4: Linfocitos T CD4

CD8: Linfocitos T CD8

CMV: Citomegalovirus

DC: Células dendríticas

ENOS: Eventos no defintorios de SIDA

mDC: Células dendríticas mieloides

MVC: Maraviroc

OMS: Organización Mundial de la Salud

RTE: Células recientemente emigradas del timo

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

TARc: Tratamiento antirretroviral combinado

TCR: Receptores de células T

Treg: Células T reguladoras

usPCR: Proteína C reactiva ultrasensible

VHB: Virus de la Hepatitis B

VHC: Virus de la Hepatitis C

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| 1. Resumen | 5 |
| 2. Introducción..... | 9 |
| 3. Objetivos..... | 16 |
| 4. Material, Métodos y Resultados | 18 |
| 4.1. <u>Herrero-Fernández I, Rosado-Sánchez I, Álvarez-Ríos AI, Galvá MI, De Luna-Romero M, Sanbonmatsu-Gámez S, Pérez-Ruiz M, Navarro-Marí JM, Carrillo-Vico A, Sánchez B, Ramos R, Cañizares J, Leal M, Pacheco YM. T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people (en revisión).....</u> | 19 |
| 4.2. <u>Herrero-Fernández I, Pacheco YM, Genebat M, Rodríguez-Méndez MDM, Lozano MDC, Polaino MJ, Rosado-Sánchez I, Tarancón-Diez L, Muñoz-Fernández MÁ, Ruiz-Mateos E, Leal M. Association between a Suppressive Combined Antiretroviral Therapy Containing Maraviroc and the Hepatitis B Virus Vaccine Response. Antimicrob Agents Chemother. 2017;62:e02050-17</u> | 65 |
| 4.3. <u>Herrero-Fernández I, Rosado-Sánchez I, Genebat M, Tarancón-Diez L, Rodríguez-Méndez MM, Pozo-Balado MM, Lozano C, Ruiz-Mateos E, Leal M, Pacheco YM. Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination. J Transl Med. 2018;16:238</u> | 79 |
| - Anexo 1: Variables demográficas, clínicas e inmunológicas asociadas con la respuesta a la vacuna frente a VHB | 91 |
| - Anexo 2: Asociación entre usPCR y título de anticuerpos frente a VHB | 93 |
| 5. Resumen global de los resultados | 94 |
| 6. Discusión global | 96 |
| 7. Conclusiones | 104 |
| 8. Bibliografía | 106 |
| 9. Financiación | 117 |
| 10. Otras publicaciones | 119 |

1. RESUMEN

RESUMEN

En la actualidad se está produciendo un cambio demográfico debido al envejecimiento de la población. Al aumentar la edad, el sistema inmunitario humano experimenta cambios característicos, conocidos como inmunosenescencia, que generan respuestas inmunológicas subóptimas. La inmunosenescencia natural o “inmunosenescencia cronológica” se refiere al deterioro progresivo del sistema inmunológico asociado a la edad.

Debido a este proceso se produce una alteración homeostática del sistema inmunológico y se generan deficiencias en la función celular B y T. En las células T se originan cambios relevantes, como la reducción de células naïve, debido principalmente a la menor timopoyesis que tiene lugar durante el envejecimiento. Además, se produce por compensación homeostática una acumulación de células T efectoras y memoria con escasa diversidad de sus receptores, con una elevada proliferación, activación, senescencia y resistencia a la apoptosis. Debido a estas alteraciones homeostáticas también se produce una expansión de las células T reguladoras (Treg), células supresoras de la respuesta inmunitaria, que contribuye a la desregulación del sistema. En la población anciana se presenta asimismo una inflamación sistémica característica del envejecimiento, proceso conocido como “*inflammaging*”, que también dificulta la función inmunitaria. Estas alteraciones conducen a que se generen respuestas inmunológicas subóptimas, provocando, entre otras complicaciones, baja efectividad de las vacunas, lo que contribuye a un aumento de la morbimortalidad de los ancianos.

El virus de la gripe, o virus de la influenza, causa una elevada morbimortalidad en la población anciana. La vacuna frente a este virus es el método más efectivo frente a la infección y las complicaciones relacionadas con la enfermedad, sin embargo, los ancianos presentan una baja eficacia de la vacuna debido a las alteraciones de su sistema inmunológico.

El objetivo de la presente Tesis Doctoral fue explorar la asociación entre distintos parámetros homeostáticos en la población anciana (función tímica, proliferación de las

células T, frecuencia y fenotipo de las Treg y biomarcadores de inflamación) con la respuesta a la vacuna frente a influenza. Este estudio se desarrolló en el trabajo **“T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people” (en revisión)**. Observamos que las alteraciones homeostáticas proliferativas que se desarrollan en las subpoblaciones de maduración de las células T CD4 y CD8, incluyendo las Treg, se asocian a una menor respuesta a la vacuna frente a influenza. Estas alteraciones homeostáticas podrían estar íntimamente relacionadas con el aumento de inflamación sistémica y con la disminución de la función tímica asociadas al envejecimiento.

Un espectro similar de alteraciones inmunológicas se produce en personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), incluso las que están recibiendo un tratamiento antirretroviral combinado (TARc) supresor, proceso conocido como “inmunosenescencia prematura”, un proceso prematuro y acentuado de la “inmunosenescencia cronológica”. Estos procesos comparten bastantes rasgos, pero no todos. Debido a la exposición al VIH y sus antígenos se produce una depleción masiva de linfocitos T CD4 y un gran desgaste inmunológico, con expansiones oligoclonales. Además, se produce una reducción de la función del timo y, por tanto, de células naïve, debido posiblemente al timotropismo del VIH. Por otro lado, se produce un aumento en los niveles de marcadores de inflamación sistémica. Además, en este escenario también se ha observado una expansión de células Treg y de células efectoras.

Los sujetos infectados por VIH tienen un riesgo elevado de complicaciones hepáticas, puesto que hay una elevada tasa de coinfección por el Virus de la Hepatitis B (VHB) y por el Virus de la Hepatitis C (VHC). La coinfección por el VHB o el VHC aumenta notablemente la morbimortalidad hepática en estos pacientes VIH. La vacunación frente a VHB es la manera más importante de prevenir la coinfección, pero los individuos VIH muestran una baja respuesta a la vacuna. Además de la baja tasa de respuesta a la vacuna, en aquellos pacientes que responden a ella, la magnitud de los anticuerpos protectores es baja y, por consiguiente, se pierden rápidamente.

Estudios previos sugieren que Maraviroc (MVC), fármaco antirretroviral, posee propiedades inmunomoduladoras que pueden impactar de manera favorable en la respuesta inmunitaria y por tanto podrían favorecer la respuesta vacunal frente a VHB. Por ello, uno de los objetivos de la presente tesis doctoral fue analizar si un tratamiento antirretroviral combinado (TARc) que contenía MVC se asociaba a una mejor respuesta a la vacuna del VHB en pacientes infectados por VIH. Este objetivo se abordó en el trabajo **“Association between a suppressive combined antiretroviral therapy containing maraviroc and the hepatitis B virus vaccine response” Antimicrob Agents Chemother 2017; 62:e02050-17**. Observamos que un TARc que incluía MVC se asociaba con una mayor magnitud de la respuesta a la vacuna frente a VHB en sujetos VIH menores de 50 años. Por tanto, un régimen conteniendo MVC durante el protocolo de inmunización podría ser una estrategia terapéutica adecuada para mejorar la respuesta vacunal en estos sujetos.

Tras este trabajo se extendió su análisis, incluyendo variables inmunológicas para conocer los posibles factores, relacionados con la inmunosenescencia, que pudieran mediar en el impacto de MVC sobre la respuesta a la vacuna frente al VHB. Por tanto, exploramos el potencial efecto de un TARc que incluía MVC en diferentes parámetros relacionados con la inflamación, la función de las células T, incluidas las Treg, y de células dendríticas, que pudieran estar relacionados con la efectividad de la vacuna en la población VIH. Este análisis se desarrolló en el trabajo **“Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination” J Transl Med 2018; 16:238**. Observamos que los pacientes tratados con un TARc incluyendo MVC mostraron un perfil inmunológico menos activado, con mayor contribución de las células T recientemente emigradas del timo y una menor frecuencia de células Treg, perfil que se asocia con una mejor respuesta a la vacuna frente al VHB. Estos datos nos llevan a especular que MVC podría tener un efecto regenerador sobre el sistema inmunitario, promoviendo la función tímica y disminuyendo la proliferación homeostática compensatoria, lo que le permitiría repercutir también en un menor estado proinflamatorio.

2. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se está produciendo un cambio demográfico en el primer mundo debido al envejecimiento de la población [1]. Por ello, el interés social y científico en el conocimiento de las bases fisiológicas del envejecimiento y la mejora de la calidad de vida en personas mayores está creciendo.

Al aumentar la edad, el sistema inmunitario humano experimenta cambios característicos, conocidos como inmunosenescencia natural, asociada al envejecimiento o inmunosenescencia cronológica, que generan respuestas inmunitarias subóptimas [2]. Dicha inmunosenescencia se refiere al deterioro progresivo del sistema inmunológico asociado a la edad, afectándose tanto el componente innato como el adaptativo [3,4]. Debido a este proceso se produce una alteración homeostática del sistema inmunológico y se producen deficiencias en la función celular B y T [5,6]. En las células T se originan cambios relevantes, como la reducción de células naïve, debido principalmente a la menor timopoyesis que se produce durante el envejecimiento [7]. Como consecuencia se desarrolla un mecanismo de compensación homeostática, generando acumulación de células T efectoras y memoria con escasa diversidad de sus receptores de células T (TCR), con una elevada proliferación, activación, senescencia y resistencia a la apoptosis [8-11]. Debido a estas alteraciones homeostáticas también se produce una expansión de las células T reguladoras (Treg) [12-17], células supresoras del sistema inmunológico [18,19], expansión que contribuye a la desregulación del sistema. Las expansiones oligoclonales de células T pueden ser debidas a reactivaciones de infecciones silentes de virus tipo herpes como el citomegalovirus (CMV), que contribuyen al deterioro y agotamiento del sistema inmunológico [20]. En la población anciana se presenta asimismo una inflamación sistémica asociada al envejecimiento, proceso conocido como *"inflammaging"*, que también afecta negativamente a la respuesta inmunitaria [20,21].

Las alteraciones que se desarrollan con el envejecimiento llevan, por tanto, a respuestas inmunitarias ineficientes, produciendo un mayor desarrollo de patologías autoinmunes, cardiovasculares y cáncer [22-28], así como una mayor prevalencia y

severidad de las enfermedades infecciosas [30], así como a una baja efectividad de las vacunas [31,32]. Todo ello incide, como consecuencia, en un aumento de la morbimortalidad de esta población.

EL virus de la gripe, o virus de la influenza, causa una elevada morbi-mortalidad en la población anciana [33]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que al año se producen entre 3 y 5 millones de casos graves de influenza y unas 650.000 muertes debidas a enfermedades respiratorias relacionadas con la gripe [34], siendo la población anciana la de mayor tasa de mortalidad [35]. La vacuna frente al virus de la gripe es el método más efectivo para prevenir la infección y sus complicaciones; debido a los cambios inmunitarios que se producen en el envejecimiento, los ancianos tienen una respuesta vacunal baja [36,37].

Las alteraciones del sistema inmunológico citadas anteriormente, junto a las alteraciones en los receptores tipo Toll [38], reducción de la actividad de la telomerasa [39,40] y deficiencias en la función celular B y T [41,42], se han relacionado específicamente con una menor respuesta a la vacuna frente a influenza. Sin embargo, las alteraciones relacionadas con la homeostasis de células T, como la menor timopoyesis y la proliferación periférica compensatoria, no se han explorado en este escenario. Además, el estado de inflamación ha sido relacionado con respuestas ineficientes a las vacunas, entre ellas la de la gripe [43-45], pero su papel en el escenario de ancianos no ha sido suficientemente explorado.

Por otro lado, las Treg suprimen la secreción de citoquinas de los linfocitos T CD4 y CD8, así como a las células presentadoras de antígenos (APC) y las células B [46]. De hecho, las Treg suprimen el cambio de clase de inmunoglobulinas en los centros germinales de los tejidos linfoides [47]. De esta manera, las Treg podrían limitar la respuesta vacunal en este escenario. Las Treg han sido estudiadas en modelos de respuesta vacunal animales [48,49] y humanos [50,51]. Además, se conoce que se expanden durante el envejecimiento [15] y tras la vacuna frente a influenza [52,53]. Sin embargo, su frecuencia y su papel antes de la vacuna frente a influenza en humanos han sido prácticamente inexplorados.

Por todo ello, uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral ha sido explorar la asociación entre distintos parámetros homeostáticos en la población anciana, como la función tímica, proliferación de las células T, frecuencia y fenotipo de las Treg y varios biomarcadores de inflamación, con la respuesta a la vacuna frente a influenza. Este estudio se desarrolló en el trabajo **“T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people” (en revisión).**

Un espectro similar de alteraciones inmunológicas se produce en personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que desarrollan una “inmunosenescencia prematura”, un proceso prematuro y acentuado de la “inmunosenescencia cronológica” [54,55]. Esta “inmunosenescencia prematura” comparte algunos rasgos con la “inmunosenescencia cronológica”, pero no todos [56-58]. Debido a la exposición al VIH y sus antígenos se produce una depleción masiva de linfocitos T CD4 y un gran desgaste inmunológico, con expansiones oligoclonales. Además, se produce una reducción de la función del timo y, por tanto, de células naïve, posiblemente debido al timotropismo del VIH [59]. Por otro lado, se produce un aumento en los niveles de biomarcadores de inflamación sistémica [60,61], lo que parece estar relacionado con una excesiva activación inmunitaria, no solo derivada de antígenos VIH, sino también de otras infecciones latentes y del fenómeno de traslocación bacteriana [62]. En este sentido, se ha sugerido que el aumento de proliferación de células T CD4 en este escenario puede estar muy relacionado con la mayor exposición a citoquinas proinflamatorias [63]. Además, en este escenario también se ha observado una expansión de células Treg [64].

Sin tratamiento la infección por VIH evoluciona a síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Esta fase de la enfermedad se caracteriza por la presencia de infecciones oportunistas y/o neoplasias que pueden ocasionar la muerte del paciente. En la actualidad, el tratamiento antirretroviral combinado (TARc) consigue suprimir la viremia VIH permitiendo el aumento del recuento de linfocitos T CD4 y una recuperación inmunológica variable [65], reduciéndose la morbimortalidad asociada a SIDA [66,67]. Sin embargo, esta situación favorable que ocurre principalmente en los

países desarrollados en los que los pacientes VIH tienen acceso al tratamiento, ha hecho emerger otra realidad clínica; a consecuencia de la “inmunosenescencia prematura”, la inflamación crónica y la toxicidad acumulada por la exposición a fármacos durante décadas, los sujetos infectados por VIH desarrollan eventos no definitorios de SIDA (ENOS), que incluyen un número de complicaciones clínicas, entre ellas procesos cardiovasculares, renales, óseos, hepáticos, metabólicos, neuropsiquiátricos y neoplasias [68,69], que en ocasiones resultan en muerte y elevan por tanto la morbimortalidad asociada a la infección crónica por VIH [70].

Además, los sujetos infectados por VIH tienen un riesgo elevado de complicaciones hepáticas, puesto que hay una elevada tasa de coinfección por el Virus de la Hepatitis B (VHB) y por el Virus de la Hepatitis C (VHC) [71,72]. La coinfección por el VHB o el VHC aumenta notablemente la morbimortalidad hepática en estos pacientes. El VIH acelera el daño hepático causado por el VHB y el VHC, la cirrosis prematura y el carcinoma hepático [73,74]. La vacunación frente a VHB es la manera más importante de prevenir la coinfección, pero los individuos VIH muestran una baja respuesta a la vacuna [75]. Además de la baja tasa de respuesta a la vacuna, en los sujetos respondedores, la magnitud de los anticuerpos protectores es baja y, por consiguiente, se pierden rápidamente [76].

El recuento de linfocitos T CD4 juega un papel fundamental en la respuesta a la vacuna frente a VHB [75,77,78]) y es conocido que el agotamiento del sistema inmunitario relacionado a la infección por VIH ocasiona el fallo de la respuesta vacunal [79]. El número de dosis y el protocolo de inmunización parecen también importantes para una mejor respuesta a la vacuna [80-82]. Además, el tratamiento antirretroviral mejora la respuesta antígeno-específica, recupera el repertorio de células T [83] y disminuye la carga viral [84], mejorando con ello dicha respuesta. Sin embargo, no se ha estudiado suficiente la influencia del tipo de TARc en la respuesta vacunal.

Estudios previos sugieren que MVC, tiene propiedades inmunomoduladoras que pueden impactar de manera favorable en la respuesta inmunitaria. MVC es un antagonista del receptor de quimiocinas CCR5. Dicho receptor es, además, utilizado por el virus del VIH para completar el proceso de entrada a la célula de las cepas virales

con tropismo R5 [85]. Por tanto, el uso clínico de MRV está actualmente indicado en pacientes virémicos, infectados por VIH con tropismo viral CCR5 [86] y ha demostrado eficacia inmunoviológica [87].

CCR5 se expresa tanto en células del sistema inmunológico innato (macrófagos, monocitos, células dendríticas, natural killers), como el adaptativo (células T) y tiene un papel importante en la respuesta inmunitaria adaptativa y en promover la migración de las células que expresan CCR5 a sitios de inflamación [88]. El bloqueo de CCR5 por MVC tiene pues implicaciones en la respuesta inmunitaria, confiriendo al fármaco propiedades inmunomoduladoras.

En apoyo de esta hipótesis, MVC se ha relacionado con el aumento de las células T CD4 [89,90], con reducción de la activación de las células T CD4 y CD8 [91] y de marcadores de inmunosenescencia de las células T [92], así como con la reducción de niveles de marcadores de inflamación [93]. Además, MVC mostró la capacidad de reducir las células Treg en sujetos VIH sin exposición previa a tratamiento antirretroviral (naïves) [94], células cuya elevada frecuencia se asoció a una menor respuesta a la vacuna frente a VHB [95]. Conjuntamente, MVC mejoró la distribución de las subpoblaciones de las células Treg [96].

Por todo ello, era razonable especular que los efectos inmunomoduladores del MVC pudieran impactar de manera favorable en la respuesta vacunal, mejorando tanto la respuesta humoral como la celular. De hecho, MVC había demostrado optimizar la neoimmunización meningocócica y mejorar la respuesta a los antígenos de recuerdo, como el toxoide tetánico [97]. Posiblemente, MVC, gracias a su efecto inmunomodulador, podría mejorar diferentes funciones del sistema inmunológico requeridas para ejercer una respuesta adecuada también tras la vacunación frente a VHB, incluyendo presentación de antígenos, funciones de las células T, regulación de la supresión de células T y funciones de las células B [98,99]. Por tanto, uno de los objetivos de la presente Tesis Doctoral fue analizar si un TARc que contenía MVC se asociaba a una mejor respuesta a la vacuna del VHB. Este objetivo se abordó en el trabajo **“Association between a suppressive combined antiretroviral therapy**

containing maraviroc and the hepatitis B virus vaccine response” Antimicrob Agents Chemother 2017; 62:e02050-17.

Tras este trabajo se extendió su análisis, incluyendo variables inmunológicas para conocer los posibles factores, relacionados con la inmunosenescencia, que pudieran mediar en el impacto de MVC sobre la respuesta a la vacuna frente al VHB. Por tanto, se exploró el potencial efecto de un TARc que incluía MVC en diferentes parámetros relacionados con la inflamación, la función de las células T, incluidas las Treg, y de células dendríticas (DC), que pudieran estar relacionados con la efectividad de la vacuna en esta población. Este análisis se desarrolló en el trabajo **“Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination” J Transl Med 2018; 16:238.**

3. OBJETIVOS

OBJETIVOS

- **Objetivo 1:** Explorar potenciales asociaciones entre distintos parámetros relacionados con la homeostasis de células T y la respuesta a la vacuna frente a influenza en sujetos ancianos. Con este fin, se consideraron principalmente los siguientes parámetros: función tímica, proliferación de las células T, frecuencia y fenotipo de las Treg y marcadores de inflamación. Este objetivo se abordó en el trabajo: **“T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people”** (en revisión).
- **Objetivo 2:** Determinar si un TARc incluyendo MVC mejora la respuesta a la vacuna frente a VHB. Este objetivo se abordó en el trabajo: **“Association between a suppressive combined antiretroviral therapy containing maraviroc and the hepatitis B virus vaccine response”** Antimicrob Agents Chemother 2017; 62:e02050-17.
- **Objetivo 3:** Explorar el potencial efecto de un TARc incluyendo MVC sobre diferentes parámetros relacionados con la homeostasis de células T, potencialmente implicados en la respuesta vacunal frente a VHB. Con este fin, se consideraron principalmente los siguientes parámetros: función tímica, proliferación de las células T y frecuencia y fenotipo de las Treg, marcadores de inflamación y fenotipo de células dendríticas. Este objetivo se abordó en el trabajo: **“Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination”** J Transl Med 2018; 16:238.

4. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

4.1. T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people

Herrero-Fernández I, Rosado-Sánchez I, Álvarez-Ríos AI, Galvá MI, De Luna-Romero M, Sanbonmatsu-Gámez S, Pérez-Ruiz M, Navarro-Marí JM, Carrillo-Vico A, Sánchez B, Ramos R, Cañizares J, Leal M, Pacheco YM.

(En revisión)

4.2. Association between a suppressive combined antiretroviral therapy containing maraviroc and the hepatitis B virus vaccine response

Herrero-Fernández I, Pacheco YM, Genebat M, Rodriguez-Méndez MDM, Lozano MDC, Polaino MJ, Rosado-Sánchez I, Tarancón-Diez L, Muñoz-Fernández MÁ, Ruiz-Mateos E, Leal M.

Antimicrob Agents Chemother 2017; 62: e02050-17

4.3. Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination

Herrero-Fernández I, Rosado-Sánchez I, Genebat M, Tarancón-Díez L, Rodríguez-Méndez MM, Pozo-Balado MM, Lozano C, Ruiz-Mateos E, Leal M, Pacheco YM.

J Transl Med 2018; 16:238

ANEXOS

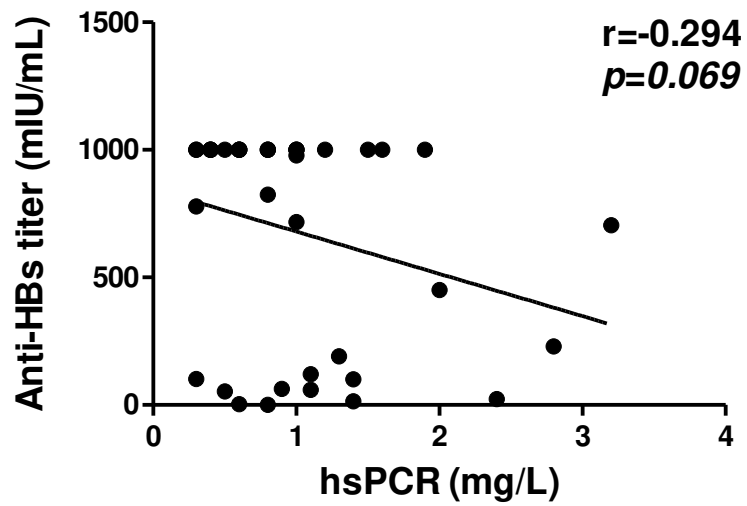
Anexo 1. Demographic, clinical and immunological variables associated with HBV vaccine responsiveness.

| Clinical and immunological variables | n=41 | Unadjusted P value; B (95% CI) | Adjusted P value; B (95% CI) |
|--|---------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Male sex, n (%) | 31 (76) | 0.055; -294.2 [-595.5-7.1] | |
| Age (years) | 41.0 [33.5-46.5] | 0.717; -3.3 [-21.3-14.8] | |
| Nadir CD4 ⁺ T-cell count (cells/mm ³) | 287.0 [206.3-402.0] | 0.288; 0.46 [-0.40-1.32] | |
| CD4 ⁺ T-cell count (cells/mm ³) | 703.0 [553.0-887.5] | 0.302; 0.30 [-0.28-0.88] | |
| CD8 ⁺ T-cell count (cells/mm ³) | 643.0 [501.0-927.0] | 0.344; -0.19 [-0.58-0.21] | |
| Ratio CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | 0.9 [0.8-1.4] | 0.205; 139.1 [-79.0-357.1] | |
| Time since diagnosis (months) | 75.0 [37.5-212.0] | 0.200; 0.89 [-0.49-2.27] | |
| Sexual transmission, n (%) | 36 (88) | 0.579; 114.4 [-298.7-527.4] | |
| Previous AIDS, n (%) | 2 (5) | 0.074; -548.2 [-1152.6-56.3] | |
| Previous HCV coinfection, n (%) | 5 (12) | 0.453; 154.4 [-257.3-566.0] | |
| NRTI containing cART, n (%) | 18 (44) | 0.496; 92.4 [-179.4-364.2] | |
| MVC containing cART, n (%) | 21 (51) | 0.017; 310.8 [58.7-563.0] | 0.016; 293.3 [58.1-5280.5] |
| Previous HBV vaccination, n (%)* | 13 (32) | 0.067; 262.6 [-19.5-544.8] | |
| Simultaneous HAV vaccination, n (%) | 18 (44) | 0.029; 287.9 [31.0-545.0] | |
| Time on HIV-treatment (months) | 69.5 [38.0-178.8] | 0.376; 0.74 [-0.93-2.42] | |
| hsCRP (mg/L) | 0.8 [0.5-1.3] | 0.096; -165.8 [-362.4-30.9] | |
| % Lymphocytes | 35.6 [26.1-39.2] | 0.555; 4.9 [-11.7-21.4] | |
| % Monocytes | 5.6 [5.3-6.1] | 0.393; 66.5 [-89.5-222.4] | |
| % Neutrophils | 53.6 [49.3-63.3] | 0.593; -3.7 [-17.8-10.3] | |
| % CD4 ⁺ Naives | 44.6 [34.2-51.0] | 0.496; 3.2 [-6.3-12.7] | |
| % CD4 ⁺ RTE | 75.6 [66.5-79.8] | 0.204; 9.2 [-5.2-23.7] | |
| % CD4 ⁺ Central Memory | 28.3 [23.2-39.5] | 0.791; -1.9 [-16.7-12.8] | |
| % CD4 ⁺ Effector Memory | 20.7 [14.9-27.8] | 0.400; -6.1 [-20.5-8.4] | |

| | | | |
|--|------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| % CD4 ⁺ TemRA | 1.8 [1.1-4.3] | 0.154; -31.4 [-75.2-12.3] | |
| % CD4 ⁺ HLA-DR ⁺ | 1.7 [1.1-2.0] | 0.161; -128.1 [-309.6-53.4] | |
| % CD4 ⁺ ki67 ⁺ | 2.3 [2.1-2.7] | 0.053; -199.5 [-401.4-2.5] | |
| % CD4 ⁺ CD57 ⁺ | 4.7 [3.1-8.0] | 0.825; -3.1 [-31.3-25.2] | |
| % CD4 ⁺ CD95 ⁺ | 55.0 [43.1-65.0] | 0.394; -3.7 [-12.3-5.0] | |
| % CD4 ⁺ CD25 ^{hi} FoxP3 ⁺ | 1.3 [1.0-1.8] | 0.565; -64.7 [-290.3-160.9] | |
| % CD4 ⁺ CD25 ^{hi} FoxP3 ⁺ HLA-DR ⁺ | 15.1 [11.0-21.6] | 0.039; -19.7 [-38.3--1.0] | |
| % CD4 ⁺ CD25 ^{hi} FoxP3 ⁺ ki67 ⁺ | 19.8 [16.9-25.0] | 0.011; -28.9 [-50.7--7.1] | 0.005; -29.6 [-49.6--9.5] |
| % CD4 ⁺ CD25 ^{hi} FoxP3 ⁺ CD39 ⁺ | 81.2 [41.7-87.0] | 0.274; -2.9 [-8.2-2.4] | |
| % CD4 ⁺ CD25 ^{hi} FoxP3 ⁺ CTLA4 ⁺ | 58.7 [46.9-68.3] | 0.232; -5.9 [-15.8-4.0] | |
| % mDCs | 0.7 [0.4-1.1] | 0.477; -85.4 [-325.9-155.1] | |
| % pDCs | 0.2 [0.18-0.24] | 0.072; 1323.5 [-122.5-2769.6] | 0.009; 1961.2 [530.4-3392.0] |

Continuous variables are expressed as median values [IQR] and categorical variables are expressed as number of cases (%). All demographic, clinical and immunological variables with a *p* value of <0.1 in the unadjusted model were included in the adjusted model and are shown in bold. Hence, male sex, previous AIDS, MVC containing cART, previous HBV vaccination, simultaneous HAV vaccination, hsCRP, %CD4⁺ki67⁺, %CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺HLA-DR⁺, %CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ki67⁺, %pDCs were included in the stepwise forward multivariate model. As shown, the resulting model only retained the variables MVC containing cART, %CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ki67⁺ and %pDCs. Variables with a *p* value of <0.05 in the adjusted model were considered statistically significant and are shown in bold.

Anexo 2. Association between hsPCR and anti-HBs titer.



Correlations were assessed using the Spearman's rho correlation coefficient. Variables with a p value of <0.1 are shown in *italics*.

5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

En el primer artículo de la presente Tesis Doctoral **“T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people” (en revisión)**, encontramos que los ancianos no respondedores a la vacuna frente a influenza mostraron mayor frecuencia de células Treg antes de la vacuna, así como una mayor expresión del marcador de proliferación ki67 en las Treg y en diferentes subpoblaciones de maduración de células T CD4 y CD8. Además, los biomarcadores de inflamación estudiados correlacionaron con las frecuencias de diferentes subpoblaciones de células T proliferativas y con la función tímica.

Con respecto al segundo artículo de la presente Tesis Doctoral, **“Association between a suppressive combined antiretroviral therapy containing maraviroc and the hepatitis B virus vaccine response” Antimicrob Agents Chemother 2017; 62:e02050-17**, observamos que, en pacientes infectados por VIH menores de 50 años, un TARc que incluía MVC se asociaba con una mayor magnitud de la respuesta a la vacuna frente a VHB. Además, la vacunación simultánea frente al Virus de la Hepatitis A (VHA), la vacuna previa frente a VHB y el sexo femenino se asociaron positivamente con la magnitud de la respuesta en la población global de pacientes VIH bajo TARc supresor.

En el tercer artículo de la presente Tesis Doctoral **“Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination” J Transl Med 2018; 16:238**, observamos que pacientes VIH menores de 50 años tratados con un TARc incluyendo MVC presentaban mayor contribución de las células recientemente emigradas del timo (RTE) y menor frecuencia de células dendríticas mieloides (mDC). Una mayor exposición a un TARc con MVC se asoció con menores frecuencias de Treg y células T CD4 activadas y proliferativas. Además, las frecuencias de células T CD4 activadas y proliferativas se asociaron inversamente con la magnitud de la respuesta a la vacuna frente a VHB.

6. DISCUSIÓN GLOBAL

DISCUSIÓN GLOBAL

La presente Tesis Doctoral profundiza en el conocimiento del proceso de inmunosenescencia en el contexto de la respuesta vacunal. Por un lado, estudiamos la respuesta vacunal frente a la gripe en sujetos ancianos y, por otro, la respuesta a la vacuna frente a VHB en sujetos VIH, siendo ambos escenarios de inmunosenescencia cronológica y prematura, respectivamente.

En el primer trabajo, *“T-cell proliferative homeostatic alterations are negatively associated with the vaccine response against influenza in elderly people”*, encontramos que la respuesta a la vacuna frente a influenza en ancianos se asoció con las alteraciones homeostáticas que se producen en el sistema inmunitario durante el envejecimiento, y que afectan a la proliferación de las distintas subpoblaciones de las células T, tanto de CD4 como CD8.

Sauce y cols. [11] observaron una asociación inversa entre la función tímica y la proliferación en células T naïves en sujetos ancianos, en sujetos timectomizados durante la infancia y también en sujetos infectados por VIH. Sin embargo, aunque en nuestra cohorte de ancianos observamos una mayor proliferación de células T naïves en el grupo de los no-respondedores a la vacuna, esto no se asoció aparentemente con una menor función tímica. Quizá esto podría explicarse por el hecho de que, aparentemente, nuestra cohorte mostró una función tímica relativamente preservada, en comparación con los valores de otra cohorte en la que la función tímica se determinó utilizando la misma técnica [100]. Lo que sí observamos fue una asociación entre la elevada proliferación de las subpoblaciones de células T estudiadas y diversos marcadores de inflamación, pudiendo, por tanto, esta proliferación ser un reflejo más directo del estado de inflamación. En esta línea, trabajos previos mostraron también una relación entre la inflamación en sujetos VIH y una mayor proliferación de las células T memoria [63]. Por tanto, es razonable especular que el incremento de la proliferación homeostática que se observa durante el envejecimiento pueda contribuir al *“inflammaging”*. Por otro lado, nosotros observamos una relación inversa entre los niveles de los marcadores de inflamación y la función tímica, y otros autores también

han descrito previamente una relación entre la involución del timo y la inflamación crónica [101]. De esta manera, en el escenario del envejecimiento, la función tímica y la inflamación parecen estar inversamente relacionadas.

Además, el hecho de que los ancianos que fallecen en nuestra cohorte, durante un año de seguimiento posterior a la vacunación, presenten conjuntamente fallo tímico, elevada proliferación de las células T y mayor inflamación, refuerza la hipótesis de que estos parámetros estén estrechamente interrelacionados.

Con relación a la respuesta vacunal en ancianos, además de la asociación con la mencionada proliferación de células T, observamos también una tendencia a la asociación con marcadores de inflamación. El papel deletéreo de la inflamación en este escenario es consistente con lo descrito previamente [43,44]. Por otro lado, la infección por CMV, que es uno de los principales factores asociados a *inflammaging*, más concretamente, el título de anticuerpos frente a CMV, se ha asociado con la respuesta vacunal en otras cohortes de ancianos [102,103]. En nuestra cohorte, no hemos observado esta asociación, pese a que sí hemos encontrado una asociación entre el título de anticuerpos anti-CMV y los niveles de marcadores de inflamación. De nuevo, quizá el hecho de que en nuestra cohorte los niveles de los marcadores de inflamación estén relativamente preservados (en comparación con otras cohortes de ancianos), puede explicar la aparente contradicción en nuestros resultados. Tampoco podemos descartar que exista asociación con marcadores de inflamación diferentes de los analizados en este estudio.

En relación con el escenario de la infección por VIH, los niveles de marcadores de inflamación han sido también previamente asociados con la escasa respuesta vacunal frente a VHA, VHB y tétanos, en sujetos coinfectados por VHC y VIH [104]. Además, la proteína C reactiva ultrasensible (usPCR) se ha propuesto como predictor de la respuesta a la vacuna del herpes zoster en ancianos [105]. En nuestra cohorte de sujetos VIH hemos observado también que los niveles de usPCR tendían a asociarse inversamente con la magnitud de la respuesta a la vacuna frente a VHB (Anexo 2). Por otro lado, los niveles de usPCR se asociaron inversamente con la frecuencia de células RTE y directamente con la frecuencia de células T CD4 activadas. Dado que la

frecuencia de RTE depende directamente de la función tímica, esto sugiere que, en este escenario, también pueda existir una relación entre la inflamación y la función tímica, en la que es interesante profundizar. En este sentido, nuestro grupo ha descrito recientemente que la función tímica impacta en la progresión clínica de los sujetos VIH [106,107]. Es interesante destacar que, actualmente, se asume que la progresión clínica de los pacientes VIH tratados depende del estado inflamatorio crónico que persiste a pesar de la supresión virológica, y de la concomitante (parcial) reconstitución inmunitaria. Esta relación indirecta (timo-progresión + progresión-inflamación) también refuerza la hipótesis del papel del timo en la inflamación crónica de pacientes VIH.

En estos escenarios de inmunosenescencia, también hemos explorado el papel de las Treg en la respuesta vacunal, puesto que las Treg están involucradas en la supresión del sistema inmunitario, impidiendo una respuesta apropiada frente a las vacunas [46,47], entre otras funciones. Además, en ambos escenarios la frecuencia de Treg se ve aumentada [15,64]. Hemos observado una frecuencia basal de Treg más elevada en los ancianos no-respondedores a la vacuna, resultados que están en línea con los de Geest *et al.* [108] y con los hallados previamente en nuestro grupo en sujetos infectados por VIH [51]. Asimismo, encontramos una mayor proliferación de las Treg en los ancianos que no respondían a la vacuna, resultado que concuerda con lo observado en el escenario VIH, en el que la respuesta a la vacuna de VHB se asoció inversamente con las células Treg proliferativas (Anexo 1 del tercer trabajo de la presente Tesis Doctoral, "*Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination*"). El hecho de que una mayor frecuencia de Treg pudiera impedir una adecuada respuesta a la vacuna tanto en sujetos ancianos, como en sujetos infectados por VIH, refuerza el concepto de que este incremento de las Treg sea una característica común de inmunosenescencia en ambos escenarios [15], que puede comprometer la capacidad del sistema inmunitario para responder de manera apropiada [48-53]. Podemos especular que la expansión y elevada proliferación de las Treg en estos escenarios estén relacionadas con la proliferación homeostática que trata de compensar la menor función tímica en estos pacientes, como se ha observado

previamente en modelos animales [109] y, más recientemente en nuestro grupo, en un modelo humano de proliferación homeostática [110]. Un análisis en profundidad del papel de la inmunosenescencia en las Treg y viceversa, así como del papel de las Treg en la respuesta vacunal, podría contribuir a la búsqueda de estrategias terapéuticas que mejoren la respuesta vacunal en estos escenarios de inmunosenescencia.

En esta Tesis Doctoral, hemos explorado una potencial estrategia terapéutica para mejorar la respuesta vacunal atendiendo a la expansión de Treg en estos escenarios de inmunosenescencia y a su efecto deletéreo en dicha respuesta. Dado que en estudios previos, nuestro grupo había mostrado que MVC podía reducir la frecuencia de Treg en sujetos con infección por VIH [94], nos propusimos estudiar si el tratamiento con un TARc que incluyese MVC podría mejorar la respuesta a la vacuna frente a VHB, mediante un efecto reductor de la frecuencia de las Treg. Pero, además, un potencial efecto beneficioso de MVC en este escenario, también podría implicar otros mecanismos de acción como una reducción de la inflamación o una mejora de la presentación antigénica. De hecho, MVC ha presentado numerosas propiedades inmunomoduladoras, como mejorar la enfermedad de injerto frente a huésped en trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas [111,112], suprimir el crecimiento tumoral e inducir apoptosis en células de leucemia linfoblástica aguda [113]. En el escenario de la infección por VIH, MVC se ha asociado a una mejora de la inmunidad de la mucosa duodenal y a una reducción de la pérdida ósea [114,115]. También, parece ejercer un perfil antiinflamatorio, disminuyendo marcadores de inflamación como la β 2-microglobulina, el CD40L soluble y el CD14 soluble [93], lo que podría mejorar la respuesta inmunitaria a las vacunas. De hecho, se había descrito previamente que MVC ejercía un efecto beneficioso en otros escenarios distintos de respuesta vacunal, como era la respuesta a la inmunización frente a tétanos, meningococo o cólera [97].

Por todo ello, en el segundo trabajo de la presente Tesis Doctoral, *“Association between a suppressive combined antiretroviral therapy containing maraviroc and the hepatitis B virus vaccine response. Antimicrob Agents Chemother”*, quisimos explorar el posible efecto beneficioso de un TARc que incluyese MVC en la respuesta vacunal

frente al VHB. Observamos que este tratamiento efectivamente se asociaba con una mayor magnitud de la respuesta a la vacuna, aunque principalmente en sujetos VIH menores de 50 años. Estos resultados llevan a recomendar una estrategia de vacunación temprana, en sujetos menores de 50 años, y acompañada de un TARc que incluya MVC. Con la edad, el sistema inmunitario se altera debido a la inmunosenescencia y la respuesta a las vacunas disminuye [59]. En los individuos con infección por VIH, este proceso está acentuado además por la inmunosenescencia prematura que propicia el propio virus [56,57]. Es probable que esta inmunosenescencia prematura esté interfiriendo con el efecto beneficioso de MVC en los sujetos mayores de 50 años.

Nos propusimos profundizar también en los posibles mecanismos inmunológicos implicados en este efecto beneficioso de un TARc que incluye MVC, concretamente, en el tercer trabajo de la presente Tesis Doctoral, *“Improved CD4 T-cell profile in HIV-infected subjects on maraviroc-containing therapy is associated with better responsiveness to HBV vaccination”*. Así, hemos explorado el potencial efecto de un TARc que incluía MVC en diferentes parámetros asociados con la inmunosenescencia, la inflamación, la función de las células T (incluidas las Treg), y células presentadoras de antígenos (incluidas las DC). Lo hemos analizado en el contexto de la eficacia de la vacuna VHB en la misma población VIH menor de 50 años estudiada en el trabajo anterior. Hemos encontrado que los pacientes tratados con un TARc incluyendo MVC mostraban un perfil inmunológico menos activado, con mayor contribución de las RTE y una menor frecuencia de mDC y de Treg. Estos factores habían sido previamente asociados con la respuesta vacunal en otras cohortes [116-118].

La elevada frecuencia de RTE en sujetos tratados con un TARc que incluía MVC, junto con la reducción de sus células T CD4 proliferativas, hace pensar que dicho régimen posee capacidad regenerativa del sistema inmune. La involución tímica que sufren los sujetos VIH [11] promueve la proliferación de células T por compensación homeostática, limitando la competencia inmunitaria al reducir el repertorio de los TCR [119]. Por tanto, si MVC mejora la función tímica, uno de los mecanismos por los cuales MVC podría estar mejorando la respuesta a la vacuna, sería aumentando la diversidad de los TCR. Por otro lado, un potencial efecto sobre la función tímica podría

repercutir a su vez en el grado de inflamación sistémica asociada a la infección por VIH. Además, el tiempo de exposición al TARc que incluía MVC también se asoció a una reducción en la frecuencia de células T CD4 activadas. Al respecto, resulta interesante que la menor frecuencia de células T CD4 proliferativas y células T CD4 activadas, correlaciona inversamente con la magnitud de la respuesta a la vacuna de VHB. En esta línea, como ya se ha comentado anteriormente, en el escenario de ancianos pudimos observar que, tanto las Treg proliferativas, como las subpoblaciones de maduración CD4 y CD8 proliferativas, correlacionaban inversamente con la respuesta a la vacuna frente a influenza.

Respecto al posible efecto inmunomodulador de un TARc que incluye MVC sobre la inflamación en la cohorte de sujetos con infección por VIH, no observamos un efecto directo de dicho tratamiento sobre el marcador de inflamación usPCR. Sin embargo, la usPCR, como hemos comentado previamente, se asoció inversamente con la frecuencia de RTE y directamente con la frecuencia de células T CD4 activadas, variables que sí se vieron impactadas por el TARc con MVC. Esto sugiere un posible efecto indirecto del TARc con MVC en el estado inflamatorio. Además, no podemos descartar que el TARc con MVC ejerza su efecto en otras citoquinas inflamatorias, como ya ha sido descrito [93].

Curiosamente, tampoco observamos una asociación directa entre estar bajo un TARc incluyendo MVC y una reducción de Treg. Esta aparente discrepancia con nuestro trabajo previo podría explicarse en base a las notables diferencias en las cohortes estudiadas, sobre todo en relación con el hecho de ser pacientes no tratados previamente con antirretrovirales, pero también en cuanto al periodo de infección calculado desde la fecha del diagnóstico [94]. Sin embargo, el tiempo de exposición a dicho TARc con MVC sí se asoció con menores frecuencias de Treg. Lo que indica que, probablemente en esta cohorte, al haber experimentado los pacientes una mayor progresión clínica, sea necesaria una prolongada exposición a MVC para que su efecto reductor sobre la frecuencia de las Treg sea patente. Creemos, por tanto, que nuestros resultados refuerzan la hipótesis de que el efecto inmunomodulador que ejerce MVC sobre las Treg puede ser otro mecanismo por el cual MVC mejora la respuesta vacunal.

En resumen, el efecto beneficioso de un TARc que incluye MVC en la respuesta a la vacuna en sujetos VIH menores de 50 años, se debe en parte a la reducción que ejerce sobre la proliferación y la activación de las células T CD4, al efecto reductor de la frecuencia de células Treg, incluso a su potencial regeneración del sistema inmunitario y todo ello además parece impactar positivamente en el grado de inflamación. Por tanto, MVC, gracias a su efecto inmunomodulador, mejora diferentes funciones del sistema inmunológico necesarias para ejercer una respuesta adecuada tras la vacunación frente a VHB.

REFLEXIÓN FINAL

La originalidad de esta Tesis Doctoral recae en que es la primera vez que se asocia la respuesta vacunal con alteraciones homeostáticas proliferativas propias de la inmunosenescencia. Además, hemos encontrado asociaciones interesantes entre la función tímica, la proliferación homeostática, la inflamación y la respuesta vacunal, en las que sería interesante profundizar en el futuro, puesto que una mejor comprensión de estas podría ayudar a entender mejor cómo la inmunosenescencia limita las capacidades del sistema inmunitario de manera global. Además, ayudaría a encontrar mejores estrategias para mejorar la respuesta vacunal en estas poblaciones inmunosenescentes. En este sentido, los resultados obtenidos en los sujetos infectados por VIH son de gran relevancia clínica y terapéutica y nos llevan a recomendar que sea considerada la prescripción de un régimen antirretroviral incluyendo MVC en los protocolos de vacunación frente a VHB.

Asimismo, dado que la pérdida de la función tímica asociada al envejecimiento podría desempeñar un papel en el origen de la inflamación y de las alteraciones proliferativas de células T, pensamos que alternativas terapéuticas encaminadas a mejorar la función tímica también podrían tener repercusión en mejorar la respuesta vacunal en estos escenarios. Por ello, sería interesante desarrollar ensayos clínicos en este contexto, como los realizados con la hormona del crecimiento en sujetos infectados por VIH, en los que se muestra una mejora de la respuesta inmunitaria frente al VIH, debido a su efecto beneficioso sobre la función tímica [120,121].

7. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Las alteraciones homeostáticas proliferativas que se dan en las subpoblaciones de maduración de las células T CD4 y CD8, incluyendo las Treg, asociadas al fenómeno de inmunosenescencia, repercuten en una menor respuesta a la vacuna frente a influenza en ancianos. Estas alteraciones homeostáticas podrían estar íntimamente relacionadas con el aumento de inflamación sistémica y con la disminución de la función tímica que se producen durante el envejecimiento.

2. Un tratamiento antirretroviral incluyendo Maraviroc se asocia con una mayor magnitud de la respuesta a la vacuna frente a Virus de la Hepatitis B en sujetos con infección por VIH menores de 50 años. Por tanto, un régimen conteniendo este fármaco durante el protocolo de inmunización podría ser una estrategia terapéutica adecuada para mejorar la respuesta vacunal en estos sujetos.

3. Los pacientes tratados con un tratamiento antirretroviral incluyendo Maraviroc muestran un perfil inmunológico menos activado, con mayor contribución de las células T recientemente emigradas del timo y una menor frecuencia de células T reguladoras, perfil que se asocia con una mejor respuesta a la vacuna frente al Virus de la Hepatitis B. Así, Maraviroc podría tener un efecto regenerador sobre el sistema inmunitario, promoviendo la función tímica y disminuyendo la proliferación homeostática compensatoria, lo que puede repercutir también en un menor estado proinflamatorio.

8. REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. United Nations. Department of Economic and Social Affairs.
[<http://www.un.org/en/development/desa/population/theme/ageing/index.shtml>]
2. Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. *J Pathol*. 2007; 211:144–56.
3. Pfister G, Savino W. Can the immune system still be efficient in the elderly? An immunological and immunoendocrine therapeutic perspective. *Neuroimmunomodulation*. 2008; 15:351–64.
4. Shaw AC, Goldstein DR, Montgomery RR. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13:875–87.
5. Frasca D, Blomberg BB. Aging affects human B cell responses. *J Clin Immunol*. 2011; 31:430–5.
6. Czesnikiewicz-Guzik M, Lee WW, Cui D, Hiruma Y, Lamar DL, Yang ZZ, Ouslander JG, Weyand CM, Goronzy JJ. T cell subset-specific susceptibility to aging. *Clin Immunol*. 2008; 127:107–18.
7. Haynes BF, Markert ML, Sempowski GD, Patel DD, Hale LP. The role of the thymus in immune reconstitution in aging, bone marrow transplantation, and HIV-1 infection. *Ann Rev Immunol*. 2000; 18:529–560.
8. Pawelec G, Barnett Y, Forsey R, Frasca D, Globerson A, McLeod J, Caruso C, Franceschi C, Fülöp T, Gupta S, Mariani E, Mocchegiani E, Solana R. T cells and ageing, January 2002 update. *Front Biosci*. 7:d1056–d1183.
9. Hakim FT, Memon SA, Cepeda R, Jones EC, Chow CK, Kasten-Sportes C, Odom J, Vance BA, Christensen BL, Mackall CL, Gress RE. Age-dependent incidence, time course, and consequences of thymic renewal in adults. *J Clin Invest*. 2005; 115:930-939.
10. Ferrando-Martínez S, Ruiz-Mateos E, Hernández A, Gutiérrez E, Rodríguez-Méndez MM, Ordoñez A, Leal M. Age-related deregulation of naive T cell homeostasis in elderly humans. *AGE*. 2011; 33:197–207.
11. Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, Roux A, Gorochoy G, Katlama C, Sidi D, Sibony-Prat J, Appay V. Lymphopenia-driven homeostatic regulation of naive T cells in elderly and thymectomized young adults. *J Immunol*. 2012; 189:5541-5548.
12. Gregg R, Smith CM, Clark FJ, Dunnion D, Khan N, Chakraverty R, Nayak L, Moss PA. The number of human peripheral blood CD4+ CD25high regulatory T cells increases with age. *Clin Exp Immunol*. 2005; 140:540–546.
13. Vukmanovic-Stejic M, Zhang Y, Cook JE, Fletcher JM, McQuaid A, Masters JE, Rustin MH, Taams LS, Beverley PC, Macallan DC, Akbar AN. Human CD4+ CD25hi Foxp3+ regulatory T cells are derived by rapid turnover of memory populations in vivo. *J Clin Invest*. 2006; 116:2423–2433.

14. Lages CS, Suffia I, Velilla PA, Huang B, Warshaw G, Hildeman DA, Belkaid Y, Chougnnet C. Functional regulatory T cells accumulate in aged hosts and promote chronic infectious disease reactivation. *J Immunol*. 2008; 181:1835–1848.
15. Raynor J, Lages CS, Shehata H, Hildeman DA, Chougnnet CA. Homeostasis and function of regulatory T cells in aging. *Curr Opin Immunol*. 2012; 24:482-487.
16. Fessler J, Ficjan A, Duftner C, Dejaco C. The impact of aging on regulatory T-cells. *Front Immunol*. 2013; 4:231.
17. Vianna PH, Canto FB, Nogueira JS, Nunes CF, Bonomo AC, Fucs R. Critical influence of the thymus on peripheral T cell homeostasis. *Immun Inflamm Dis*. 2016; 4:474-486.
18. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2004; 22:531-62.
19. Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. *N Engl J Med*. 2006; 354:1166-76.
20. Pawelec G, Derhovanessian E. Role of CMV in immune senescence. *Virus Res*. 2011; 157:175–179.
21. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 908:244-254.
22. Singh T, Newman AB. Inflammatory markers in population studies of aging. *Ageing Res Rev* 2011; 10:319-29.
23. Walston J, McBurnie MA, Newman A, Tracy RP, Kop WJ, Hirsch CH, Gottdiener J, Fried LP; Cardiovascular Health Study. Frailty and activation of the inflammation and coagulation systems with and without clinical comorbidities: results from the Cardiovascular Health Study. *Arch. Intern. Med*. 2002; 162:2333–41.
24. Cesari M, Pennix BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Rubin SM, Ding J, Simonsick EM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation*. 2003; 108:2317–22.
25. Shlipak MG, Fried LF, Crump C, Bleyer AJ, Manolio TA, Tracy RP, Furberg CD, Psaty BM. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation*. 2003; 107:87–92.
26. Wikby A, Ferguson F, Forsey R, Thompson J, Strindhall J, Löfgren S, Nilsson BO, Ernerudh J, Pawelec G, Johansson B. An immune risk phenotype, cognitive impairment, and survival in very late life: impact of allostatic load in Swedish octogenarian and nonagenarian humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005; 60:556-65.
27. Aiello AE, Haan M, Blythe L, Moore K, Gonzalez JM, Jagust W. The influence of latent viral infection on rate of cognitive decline over 4 years. *J Am Geriatr Soc*. 2006; 54:1046-54.
28. Holmes C, Cunningham C, Zotova, Woolford J, Dean C, Kerr S, Culliford D, Perry VH. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Neurology*. 2010; 73:768-74.

29. Roberts ET, Hann MN, Dowd JB, Allison EA. Cytomegalovirus antibody levels, inflammation, and mortality among elderly Latinos over 9 years of follow-up. *Am J Epidemiol.* 2010; 172:363-71.
30. Stowe RP, Kozlova EV, Yetman DL, Walling DM, Goodwin JS, Glaser R. Chronic herpesvirus reactivation occurs in aging. *Exp Gerontol.* 2007; 42:563-70.
31. Goronzy JJ, Weyand CM. Understanding immunosenescence to improve responses to vaccines. *Nat Immunol.* 2013; 14:428-436.
32. Pinti M, Appay V, Campisi J, Frasca D, Fülöp T, Sauce D, Larbi A, Weinberger B, Cossarizza A. Aging of the immune system – focus on inflammation and vaccination. *Eur J Immunol.* 2016; 46:2286-2301.
33. Gasparini R, Amicizia D, Lai PL, Panatto D. Clinical and socioeconomic impact of seasonal and pandemic influenza in adults and the elderly. *Hum Vaccin Immunother.* 2012; 8:21-28.
34. World Health Organization: Influenza seasonal.
[<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>]
35. Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, Muscatello DJ, Palekar R, Tempia S, Cohen C, Gran JM, Schanzer D, Cowling BJ, Wu P, Kyncl J, Ang LW, Park M, Redlberger-Fritz M, Yu H, Espenhain L, Krishnan A, Emukule G, van Asten L, Pereira da Silva S, Aungkulanon S, Buchholz U, Widdowson MA, Bresee JS; Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet.* 2018; 391:1285-1300.
36. Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine.* 2006; 24:1159-1169.
37. Haq K, McElhaney JE. Immunosenescence: influenza vaccination and the elderly. *Curr Opin Immunol.* 2014; 29C:38-42.
38. Panda A, Qian F, Mohanty S, van Duin D, Newman FK, Zhang L, Chen S, Towle V, Belshe RB, Fikrig E, Allore HG, Montgomery RR, Shaw AC. Age-associated decrease in TLR function in primary human dendritic cells predicts influenza vaccine response. *J Immunol.* 2010; 184:2518-2527.
39. Weng NP. Telomere and adaptive immunity. *Mech Ageing Dev.* 2008; 129:60–6.
40. Najarro K, Nguyen H, Chen G, Xu M, Alcorta S, Yao X, Zukley L, Metter EJ, Truong T, Lin Y, Li H, Oelke M, Xu X, Ling SM, Longo DL, Schneck J, Leng S, Ferrucci L, Weng NP. Telomere length as an indicator of the robustness of B- and T-cell response to influenza in older adults. *J Infect Dis.* 2015; 212:1261-1269.
41. Frasca D, Blomberg BB. B cell function and influenza vaccine responses in healthy aging and disease. *Curr Opin Immunol.* 2014; 29C:112–118.
42. Saurwein-Teissl M, Lung TL, Marx F, Gschösser C, Asch E, Blasko I, Parson W, Böck G, Schönitzer D, Trannoy E, Grubeck-Loebenstien B. Lack of antibody production following immunization in old age: association with CD8(+)/CD28(-) T-cell clonal expansions and an imbalance in the production of Th1 and Th2 cytokines. *J Immunol.* 2002; 168:5893-5899.

43. Trzonkowski P, Myśliwska J, Szmit E, Wieckiewicz J, Lukaszuk K, Brydak LB, Machała M, Myśliwski A. Association between cytomegalovirus infection, enhanced proinflammatory response and low level of anti-hemagglutinins during the anti-influenza vaccination--an impact of immunosenescence. *Vaccine*. 2003; 21:3826-3836.
44. Parmigiani A, Alcaide ML, Freguja R, Pallikkuth S, Frasca D, Fischl MA, Pahwa S. Impaired Antibody Response to Influenza Vaccine in HIV-Infected and Uninfected Aging Women Is Associated with Immune Activation and Inflammation. *PLoS one*. 2013; 8:e79816.
45. Pinti M, Appay V, Campisi J, Frasca D, Fülöp T, Sauce D, Larbi A, Weinberger B, Cossarizza A. Aging of the immune system – focus on inflammation and vaccination. *Eur J Immunol*. 2016; 46:2286-2301.
46. Plitas G, Rudensky AY. Regulatory T Cells: Differentiation and Function. *Cancer Immunol Res*. 2016; 4:721-725.
47. Lim HW, Hillsamer P, Kim CH. Regulatory T cells can migrate to follicles upon T cell activation and suppress GC-Th cells and GC-Th cell-driven B cell responses. *J Clin Invest*. 2004; 114:1640-1649.
48. Toka F, Suvas S, Rouse BT. CD4+ CD25+ T cells regulate vaccine-generated primary and memory CD8+ T-cell responses against herpes simplex virus type 1. *J Virol*. 2004; 78:13082-13089.
49. Espinoza-Mora MR, Steeg C, Tartz S, Heussler V, Sparwasser T, Link A, Fleischer B, Jacobs T. Depletion of regulatory T cells augments a vaccine-induced T effector cell response against the liver-stage of malaria but fails to increase memory. *PLoS One*. 2014; 12;9:e104627.
50. Yang Z, Wang L, Niu W, Wu Y, Zhang J, Meng G. Increased CD4+CD25+FoxP3+regulatory T cells in the blood of nonresponders after standard hepatitis B surface antigen vaccine immunization. *Clin Immunol*. 2008; 127:265-266.
51. Pozo-Balado MM, Leal M, Méndez-Lagares G, Mata RC, López-Cortés LF, Viciano P, Pacheco YM. Increased regulatory T cell counts in HIV-infected nonresponders to hepatitis B virus vaccine. *J Infect Dis*. 2010; 202:362-369.
52. Wang SM, Tsai MH, Lei HY, Wang JR, Liu CC. The regulatory T cells in anti-influenza antibody response post influenza vaccination. *Hum Vaccine Immunother*. 2012; 8:1243–1249.
53. Lin PH, Wong WI, Wang YL, Hsieh MP, Lu CW, Liang CY, Jui SH, Wu FY, Chen PJ, Yang HC. Vaccine-induced antigen-specific regulatory T cells attenuate the antiviral immunity against acute influenza virus infection. *Mucosal Immunol*. 2018; 11:1239-1253.
54. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia L, Celani L, Scurti M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007; 128:92-105.
55. Almeida JR, Price DA, Papagano L, Arkoub ZA, Sauce D, Bornstein E, Asher TE, Samri A, Schnuriger A, Theodorou I, Costagliola D, Rouzioux C, Agut H, Marcelin AG, Douek D, Autran B, Appay V. Superior control of HIV-1 replication by CD8+ T cells is reflected by their avidity, polyfunctionality, and clonal turnover. *J Exp Med*. 2007; 204:2473-85.

56. Ferrando-Martínez S, Ruiz-Mateos E, Romero-Sánchez MC, Muñoz-Fernández MÁ, Viciano P, Genebat M, Leal M. HIV infection-related premature immunosenescence: high rates of immune exhaustion after short time of infection. *Curr HIV Res.* 2011; 9:289-294.
57. De Pablo-Bernal RS, Ramos R, Genebat M, Cañizares J, Rafii-El-Idrissi Benhnia M, Muñoz-Fernández MA, Pacheco YM, Galvá MI, Leal M, Ruiz-Mateos E. Phenotype and Polyfunctional Deregulation Involving Interleukin 6 (IL-6)- and IL-10-Producing Monocytes in HIV-Infected Patients Receiving Combination Antiretroviral Therapy Differ From Those in Healthy Older Individuals. *J Infect Dis.* 2016; 213:999-1007.
58. De Pablo-Bernal RS, Ruiz-Mateos E, Rosado I, Dominguez-Molina B, Alvarez-Ros AI, Carrillo-Vico A, De La Rosa R, Delgado J, Muñoz-Fernández MA, Leal M, Ferrando-Martínez S. TNF- α levels in HIV-infected patients after long-term suppressive cART persist as high as in elderly, HIV-uninfected subjects. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69:3041-6.
59. Deeks SG. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging. *Annu. Rev. Med.* 2011; 62:141-55.
60. Haissman JM, Vestergaard LS, Sembuche S, Erikstrup C, Mmbando B, Mtullu S, Lemnge MM, Gerstoft J, Ullum H. Plasma cytokine levels in Tanzanian HIV-1- infected adults and the effect of antiretroviral treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009; 52:493-7.
61. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, Ledergerber B, Lundgren J, Neuhaus J, Nixon D, Paton NI, Neaton JD; INSIGHT SMART Study Group. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PlosMed.* 2008; 5:e203.
62. Wang H1, Kotler DP. HIV enteropathy and aging: gastrointestinal immunity, mucosal epithelial barrier, and microbial translocation. *Curr Opin HIV AIDS.* 2014; 9:309-16.
63. Jiang W, Younes SA, Funderburg NT, Mudd JC, Espinosa E, Davenport MP, Babineau DC, Sieg SF, Lederman MM. Cycling memory CD4+ T cells in HIV disease have a diverse T cell receptor repertoire and a phenotype consistent with bystander activation. *J Virol.* 2014; 88:5369-5380.
64. Chevalier MF, Weiss L. The split personality of regulatory T cells in HIV infection. *Blood.* 2013; 121:29-37.
65. Guihot A, Bourgarit A, Carcelain G, Autran B. Immune reconstitution after a decade of combined antiretroviral therapies for human immunodeficiency virus. *Trends Immunol.* 2011; 32:131-7.
66. Brodt HR, Kamps BS, Gute P, Knupp B, Staszewski S, Helm EB. Changing incidence of AIDS-defining illnesses in the era of antiretroviral combination therapy. *AIDS.* 1997; 15:1731-8.
67. Palella FJ Jr, 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. *N Engl J Med.* 1998; 339:405-6.
68. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, Menozzi M, Carli F, Garlassi E, Berti A, Rossi E, Roverato A, Palella F. Premature Age-Related Comorbidities Among HIV-Infected Persons Compared With the General Population. *Clin Infect Dis.* 2011; 53:1120-6.

69. Deeks SG, Lewin SR, Havlir DV. The End of AIDS: HIV Infection as a Chronic Disease. *Lancet*. 2013; 382:1525-1533.
70. Mocroft A, Brettle R, Kirk O, Blaxhult A, Parkin JM, Antunes F, Francioli P, D'Arminio Monforte A, Fox Z, Lundgren JD; EuroSIDA study group. Changes in the cause of death among HIV positive subjects across Europe: results from the EuroSIDA study. *AIDS*. 2002; 16:1663-71.
71. Thio CL. Hepatitis B in the human immunodeficiency virus-infected patient: epidemiology, natural history, and treatment. *Semin Liver Dis*. 2003; 23:125-36.
72. Alejos B, Hernando V, Iribarren J, Gonzalez-García J, Hernando A, Santos J, Asensi V, Gomez-Berrocal A, Del Amo J, Jarrin I; CoRIS (Cohort of the Spanish Network on HIV/AIDS Research). Overall and cause-specific excess mortality in HIV-positive persons compared with the general population: Role of HCV coinfection. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95:e4727.
73. Soto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, del Olmo JA, Garcia-Bengoechea M, Hernandez-Quero J, Rey C, Abad MA, Rodriguez M, Sales Gilabert M, Gonzalez F, Miron P, Caruz A, Relimpio F, Torronteras R, Leal M, Lissen E. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol*. 1997; 26:1-5.
74. Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R, Jr, Phair J, Visscher B, Munoz A, Thomas DL, Multicenter AIDS Cohort Study. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). *Lancet*. 2002; 360:1921-1926.
75. Whitaker JA, Rouphael NG, Edupuganti S, Lai L, Mulligan MJ. Strategies to increase responsiveness to hepatitis B vaccination in adults with HIV-1. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12:966-976.
76. Kerneis S, Launay O, Turbelin C, Batteux F, Hanslik T, Boelle PY. Long-term immune responses to vaccination in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2014; 58:1130–1139.
77. Fillion LG, Saginur R, Szczerbak N. Humoral and cellular immune responses by normal individuals to hepatitis B surface antigen vaccination. *J Exp Immunol*. 1988; 71:405-409.
78. Egea E, Iglesias A, Salazar M, Morimoto C, Kruskall MS, Awdeh Z, Schlossman SF, Alper CA, Yunis EJ. The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B vaccine in humans. *J Exp Med*. 1991; 173:531-538.
79. Yao ZQ, Moorman JP. Immune Exhaustion and Immune Senescence: Two Distinct Pathways for HBV Vaccine Failure During HCV and/or HIV Infection. *Arch Immunol Ther Exp*. 2013; 61:193-201.
80. Fonseca MO, Pang LW, de Paula Cavalheiro N, Barone AA, Heloisa Lopes M. Randomized trial of recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected adult patients comparing a standard dose to a double dose. *Vaccine*. 2005; 23:2902–2908.
81. Launay O, van der Vliet D, Rosenberg AR, Michel ML, Piroth L, Rey D, Colin de Verdiere N, Slama L, Martin K, Lortholary O, Carrat F, ANRS HB03 VIHvac-B Trial. Safety and immunogenicity of 4 intramuscular double doses and 4 intradermal low doses vs standard hepatitis B vaccine regimen in adults with HIV-1: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2011; 305:1–9.

82. Chaiklang K, Wipasa J, Chaiwarith R, Preparattanapan J, Supparatpinyo K. Comparison of immunogenicity and safety of four doses and four double doses vs. standard doses of hepatitis B vaccination in HIV-infected adults: a randomized, controlled trial. *PLoS One*. 2013; 12:e80409.
83. Vrisekoop N, van Gent R, de Boer AB, Otto SA, Borleffs JC, Steingrover R, Prins JM, Kuijpers TW, Wolfs TF, Geelen SP, Vulto I, Lansdorp P, Tesselaa K, Borghans JA, Miedema F. Restoration of the CD4 T cell compartment after long-term highly active antiretroviral therapy without phenotypical signs of accelerated immunological aging. *J Immunol*. 2008; 181:1573-1581.
84. Overton ET, Sungkanuparph S, Powderly WG, Seyfried W, Groger RK, Aberg JA. Undetectable plasma HIV RNA load predicts success after hepatitis B vaccination in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. 2005; 41:1045-1048.
85. Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism and disease. *Annu Rev Immunol*. 1999; 17:657-700.
86. Hammer SM, Eron JJ Jr, Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, Cahn P, Fischl MA, Gatell JM, Hirsch MS, Jacobsen DM, Montaner JS, Richman DD, Yeni PG, Volberding PA; International AIDS Society-USA. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA*. 2008; 300:555-70.
87. Hardy WD, Gulick RM, Mayer H, Fätkenheuer G, Nelson M, Heera J, Rajcic N, Goodrich J. Two-year safety and virologic efficacy of maraviroc in treatment-experienced patients with CCR5-tropic HIV-1 infection: 96-week combined analysis of MOTIVATE 1 and 2. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;
88. Lederman MM, Penn-Nicholson A, Cho M, Mosier D. Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. *JAMA*. 2006; 296:815-26.
89. Saag M, Goodrich J, Fätkenheuer G, Clotet B, Clumeck N, Sullivan J, Westby M, van der Ryst E, Mayer H; A4001029 Study Group. A double-blind, placebo-controlled trial of maraviroc in treatment-experienced patients infected with non-R5 HIV-1; A4001029 Study Group. *J Infect Dis*. 2009; 199:1638-47.
90. Asmuth DM, Goodrich J, Cooper DA, Haubrich R, Rajcic N, Hirschel B, Mayer H, Valdez H. CD4+ T-cell restoration after 48 weeks in the maraviroc treatment-experienced trials MOTIVATE 1 and 2. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010; 54:394-7.
91. Funderburg N, Kalinowska M, Eason J, Goodrich J, Heera J, Mayer H, Rajcic N, Valdez H, Lederman MM. Effects of maraviroc and efavirenz on markers of immune activation and inflammation and associations with CD4+ cell rises in HIV-infected patients. *PLoS One*. 2010; 5:e13188.
92. Romero-Sánchez MC, Machmach K, Gonzalez-Serna A, Genebat M, Pulido I, García-García M, Alvarez-Ríos AI, Ferrando-Martinez S, Ruiz-Mateos E, Leal M. Effect of maraviroc on HIV disease progression-related biomarkers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56:5858-64.
93. Romero-Sanchez MC, Alvarez-Rios AI, Bernal-Morell E, Genebat M, Vera F, Benhnia MR, Bravo-Urbietta J, Galera-Penaranda C, de Pablo-Bernal RS, Abad-Carrillo MA, Leal M, Ruiz-Mateos E, VIH-GEMUVIH Region de Murcia Study Group. Maintenance of virologic efficacy and decrease in levels of b2-microglobulin, soluble CD40L and soluble CD14 after switching

previously treated HIV-infected patients to an NRTI-sparing dual therapy. *Antiviral Res.* 2014; 111:26-32.

94. Pozo-Balado MM, Martínez-Bonet M, Rosado I, Ruiz-Mateos E, Mendez-Lagares G, Rodríguez-Mendez MM, Vidal F, Muñoz-Fernández MA, Pacheco YM, Leal M. Maraviroc reduces the regulatory T-cell frequency in antiretroviral-naïve HIV-infected subjects. *J Infect Dis.* 2014.; 210:890-898.

95. Pozo Balado MM, Leal M, Mendez Lagares G, Mata RC, Lopez-Cortes LF, Viciano P, Pacheco YM. Increased regulatory T cell counts in HIV-infected nonresponders to hepatitis B virus vaccine. *J Infect Dis.* 2010; 202:362-369.

96. Pozo-Balado MM, Rosado-Sánchez I, Méndez-Lagares G, Rodríguez-Méndez MM, Ruiz-Mateos E, Benhnia MR, Muñoz-Fernández MA, Leal M, Pacheco YM. Maraviroc contributes to the restoration of the homeostasis of regulatory T-cell subsets in antiretroviral-naïve HIV-infected subjects. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22:461.e1-5.

97. Westrop SJ, Moyle G, Jackson A, Nelson M, Mandalia S, Imami N. CCR5 antagonism impacts vaccination response and immune profile in HIV-1 infection. *Mol Med.* 2012; 18:1240-8.

98. Egea E, Iglesias A, Salazar M, Morimoto C, Kruskall MS, Awdeh Z, Schlossman SF, Alper CA, Yunis EJ. The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B vaccine in humans. *J Exp Med.* 1991; 173:531-538.

99. Fillion LG, Saginur R, Szczerbak N. Humoral and cellular immune responses by normal individuals to hepatitis B surface antigen vaccination. *J Exp Immunol.* 1988; 71:405-409.

100. Ferrando-Martínez S, Romero-Sánchez MC, Solana R, Delgado J, de la Rosa R, Muñoz-Fernández MA, Ruiz-Mateos E, Leal M. Thymic function failure and C-reactive protein levels are independent predictors of all-cause mortality in healthy elderly humans. *AGE.* 2013; 35:251-259.

101. Coder BD, Wang H, Ruan L, Su DM. Thymic involution perturbs negative selection leading to autoreactive T cells that induce chronic inflammation. *J Immunol.* 2015; 194:5825-5837.

102. Frasca D, Diaz A, Romero M, Landin AM, Blomberg BB. Cytomegalovirus (CMV) seropositivity decreases B cell responses to the influenza vaccine. *Vaccine.* 2015; 33:1433-1439.

103. Merani S, Pawelec G, Kuchel GA, McElhaney JE. Impact of Aging and Cytomegalovirus on Immunological Response to Influenza Vaccination and Infection. *Front Immunol.* 2017; 8:784.

104. Shive CL, Judge CJ, Clagett B, Kalayjian RC, Osborn M, Sherman KE, Fichtenbaum C, Gandhi RT, Kang M, Popkin DL, Sieg SF, Lederman MM, Rodriguez B, Anthony DD. Pre-vaccine plasma levels of soluble inflammatory indices negatively predict responses to HAV, HBV, and tetanus vaccines in HCV and HIV infection. *Vaccine.* 2018; 36:453-60.

105. Verschoor CP, Lelic A, Parsons R, Eveleigh C, Bramson JL, Johnstone J, Loeb MB, Bowdish DME. Serum C-reactive protein and congestive heart failure as significant predictors of herpes zoster vaccine response in elderly nursing home residents. *J Infect Dis.* 2017; 216:191-7.

106. Rosado-Sánchez I, Herrero-Fernández I, Genebat M, Ruiz-Mateos E, Leal M, Pacheco YM. Thymic Function Impacts the Peripheral CD4/CD8 Ratio of HIV-Infected Subjects. *Clin Infect Dis*. 2017; 64:152-158.
107. Ferrando-Martinez S, De Pablo-Bernal RS, De Luna-Romero M, De Ory SJ, Genebat M, Pacheco YM, Parras FJ, Montero M, Blanco JR, Gutierrez F, Santos J, Vidal F, Koup RA, Muñoz-Fernández MÁ, Leal M, Ruiz-Mateos E. Thymic Function Failure Is Associated With Human Immunodeficiency Virus Disease Progression. *Clin Infect Dis*. 2017; 64:1191-1197.
108. van der Geest KS, Abdulahad WH, Tete SM, Lorencetti PG, Horst G, Bos NA, Kroesen BJ, Brouwer E, Boots AM. Aging disturbs the balance between effector and regulatory CD4+ T cells. *Exp Gerontol*. 2014;60:190-196.
109. Curotto De Lafaille MA, Lino AC, Kutchukhidze N, Lafaille JJ. CD25- T cells generate CD25+Foxp3+regulatory T cells by peripheral expansion. *J Immunol*. 2004; 173:7259-68.
110. Rosado-Sánchez I, González-Magaña A, Pozo-Balado MM, Herrero-Fernández I, Polaino MJ, Rodríguez-Méndez MM, González-Escribano MF, Leal M, Pacheco YM. An in vitro system of autologous lymphocytes culture that allows the study of homeostatic proliferation mechanisms in human naive CD4 T-cells. *Lab Invest*. 2018; 98:500-511.
111. Reshef R, Luger SM, Hexner EO, Loren AW, Frey NV, Nasta SD, Goldstein SC, Stadtmauer EA, Smith J, Bailey S, Mick R, Heitjan DF, Emerson SG, Hoxie JA, Vonderheide RH, Porter DL. Blockade of lymphocyte chemotaxis in visceral graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2012; 367:135-145.
112. Moy RH, Huffman AP, Richman LP, Crisalli L, Wang XK, Hoxie JA, Mick R, Emerson SG, Zhang Y, Vonderheide RH, Porter DL, Reshef R. Clinical and immunologic impact of CCR5 blockade in graft-versus-host disease prophylaxis. *Blood*. 2017; 129:906-916.
113. Zi J, Yuan S, Qiao J, Zhao K, Xu L, Qi K, Xu K, Zeng L. Treatment with the C-C chemokine receptor type 5 (CCR5)-inhibitor maraviroc suppresses growth and induces apoptosis of acute lymphoblastic leukemia cells. *Am J Cancer Res*. 2017; 7:869-880.
114. Serrano-Villar S, Sainz T, Ma ZM, Utay NS, Wook-Chun T, Mann S, Kashuba AD, Siewe B, Albanese A, Troia-Cancio P, Sinclair E, Somasunderam A, Yotter T, Deeks SG, Landay A, Pollard RB, Miller CJ, Moreno S, Asmuth DM. Effects of combined CCR5/integrase inhibitors-based regimen on mucosal immunity in HIV-infected patients naive to antiretroviral therapy: a pilot randomized trial. *PLoS Pathog*. 2016; 12:e1005540.
115. Taiwo BO, Chan ES, Fichtenbaum CJ, Ribaldo H, Tsibris A, Klingman KL, Eron JJ, Berzins B, Robertson K, Landay A, Ofotokun I, Brown T, AIDS Clinical Trials Group A5303 Study Team. Less bone loss with maraviroc-versus tenofovir containing antiretroviral therapy in the AIDS Clinical Trials Group A5303 Study. *Clin Infect Dis*. 2015; 61:1179-1188.
116. Wilson CM, Ellenberg JH, Sawyer MK, Belzer M, Crowley-Nowick PA, Puga A, Futterman DC, Peralta L; Adolescent Medicine HIV/AIDS Research Network. Adolescent Medicine HIV/AIDS Research Network. Serologic response to hepatitis B vaccine in HIV infected and high-risk HIV uninfected adolescents in the REACH cohort. Reaching for excellence in adolescent care and health. *J Adolesc Health*. 2001; 29:123-9.

117. Veiga AP, Casseb J, Duarte AJ. Humoral response to hepatitis B vaccination and its relationship with T CD45RA+ (naive) and CD45RO+ (memory) subsets in HIV-1-infected subjects. *Vaccine*. 2006; 4:7124–8.
118. Anthony DD, Umbleja T, Aberg JA, Kang M, Medvik K, Lederman MM, Peters MG, Koziel MJ, Overton ET. Lower peripheral blood CD14+ monocyte frequency and higher CD34+ progenitor cell frequency are associated with HBV vaccine induced response in HIV infected individuals. *Vaccine*. 2011; 29:3558–63.
119. Kohler S, Thiel A. Life after the thymus: CD31+ and CD31– human naïve CD4+ T-cell subsets. *Blood*. 2009; 113:769-74.
120. Plana M, Garcia F, Darwich L, Romeu J, López A, Cabrera C, Massanella M, Canto E, Ruiz-Hernandez R, Blanco J, Sánchez M, Gatell JM, Clotet B, Ruiz L, Bofill M; Red de Investigación en Sida (RIS). The reconstitution of the thymus in immunosuppressed individuals restores CD4-specific cellular and humoral immune responses. *Immunology*. 2011; 133(3):318-28.
121. Herasimtschuk AA, Hansen BR, Langkilde A, Moyle GJ, Andersen O, Imami N. Low-dose growth hormone for 40 weeks induces HIV-1-specific T cell responses in patients on effective combination anti-retroviral therapy. *Clin Exp Immunol*. 2013; 173:444-53.

9. FINANCIACIÓN

FINANCIACIÓN

Los estudios llevados a cabo en la presente tesis doctoral han sido financiados por las siguientes entidades:

- Fondo de Investigación Sanitaria [FIS; PI11/02014; PI14/01693], co-financiado por Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (FEDER)
- Junta de Andalucía, Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo [Proyecto de Investigación de Excelencia; CTS2593]
- ViiV-Pfizer (proyecto competitivo a nivel internacional) “Role of a combined antiretroviral treatment including maraviroc in the response to hepatitis B and A virus vaccine” [Ref. 205644].

Finalmente, Yolanda María Pacheco López en calidad de directora de la presente tesis ha sido la Investigadora Principal de los proyectos mencionados. Su contrato ha sido financiado por los Fondos de Investigación Sanitaria mediante los programas “Miguel Servet” [CP07/00240; CPII13/00037] y por la Consejería de Salud y Bienestar Social de la Junta de Andalucía, mediante el programa “Nicolás Monardes” [C-0010/13; C-0013-2017].

10. OTRAS PUBLICACIONES

OTRAS PUBLICACIONES

- Rosado-Sánchez I, [Herrero-Fernández I](#), Sobrino S, Carvajal AE, Genebat M, Tarancón-Díez L, Fontillón-Alberdi M, de Pablo RM, Muñoz-Fernández MA, Leal M, Pacheco YM. **Thymic function impacts the colonic mucosal integrity of successfully-treated HIV-infected subjects.** (En revisión)
- Rosado-Sánchez I, [Herrero-Fernández I](#), Genebat M, Del Romero J, Riera M, Podzamczar D, Olalla J, Vidal F, Muñoz-Fernández MA, Leal M, Pacheco YM. **HIV-Infected Subjects With Poor CD4 T-Cell Recovery Despite Effective Therapy Express High Levels of OX40 and $\alpha 4\beta 7$ on CD4 T-Cells Prior Therapy Initiation.** Front Immunol. 2018; 9:1673.
- Rosado-Sánchez I, González-Magaña A, Pozo-Balado MM, [Herrero-Fernández I](#), Polaino MJ, Rodríguez-Méndez MM, González-Escribano MF, Leal M, Pacheco YM. **An in vitro system of autologous lymphocytes culture that allows the study of homeostatic proliferation mechanisms in human naive CD4 T-cells.** Lab Invest. 2018; 98:500-511.
- Rosado-Sánchez I, [Herrero-Fernández I](#), Tarancón-Díez L, Moreno S, Iribarren JA, Dalmau D, Vera-Méndez F, Leal M, Pacheco YM. **Increased frequencies of Th17 cells and IL17a-producing regulatory T-cells preceding the immunodiscordant response to antiretroviral treatment.** J Infect. 2018; 76:86-92.
- Rosado-Sánchez I, [Herrero-Fernández I](#), Álvarez-Ríos AI, Genebat M, Abad-Carrillo MA, Ruiz-Mateos E, Pulido F, González-García J, Montero M, Bernal-Morell E, Vidal F, Leal M, Pacheco YM. **A Lower Baseline CD4/CD8 T-Cell Ratio Is Independently Associated with Immunodiscordant Response to Antiretroviral Therapy in HIV-Infected Subjects.** Antimicrob Agents Chemother. 2017; 61:e00605-17.
- Rosado-Sánchez I, Jarrín I, Pozo-Balado MM, de Pablo-Bernal RS, [Herrero-Fernández I](#), Álvarez-Ríos AI, Rodríguez-Gallego E, Genebat M, Vera M,

Berenguer J, Martín ML, Bernal E, Vidal F, Blanco J, Leal M, Pacheco YM. **Higher levels of IL-6, CD4 turnover and Treg frequency are already present before cART in HIV-infected subjects with later low CD4 recovery.** Antiviral Res. 2017; 142:76-82.

- Rosado-Sánchez I, Herrero-Fernández J, Genebat M, Ruiz-Mateos E, Leal M, Pacheco YM. **Thymic Function Impacts the Peripheral CD4/CD8 Ratio of HIV-Infected Subjects.** Clin Infect Dis. 2017; 64:152-158.