



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

Posgrado en Ciencias Físicas

**“ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA DINÁMICA  
VIRAL EN RELACIÓN AL GÉNERO DE PACIENTES  
MEXICANOS INFECTADOS POR EL VIH-1”**

**TESIS**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:**  
**MAESTRA EN CIENCIAS**  
**(FÍSICA MÉDICA)**

**P R E S E N T A:**

**Paola Ballesteros Zebadúa**

**Director: Dr. Carlos Villarreal**

**Comité Tutorial:**

**Dr. Germinal Cocho**

**Dra. María Ester Brandan**

**Dra. Leonor Huerta**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Carlos Villarreal por darme la oportunidad de trabajar con él, por su disposición y apoyo incondicionales y por siempre darme la libertad y confianza para trabajar y aprender.

Gracias a la Dra. Leonor Huerta, Dra. Maria Ester Brandan y Dr. Germinal Cocho por su increíble apoyo, comprensión y aliento en todo momento.

Agradezco enormemente al Dr. José Luis Estrada por su visión, confianza y apoyo, ya que sin él este trabajo no hubiera sido posible. También agradezco al Dr. Gustavo Barriga y a todo el personal del Laboratorio de Infectología del Hospital de la Raza que permitió que esta investigación se llevara a cabo.

Agradezco la colaboración y el tiempo del Dr. Carlos Vilalta del CIDE por su asesoría estadística.

Agradezco el apoyo y enseñanzas que recibí de mis maestros del posgrado en Física Médica; en especial al Dr. Carlos Larralde y al Dr. Luis Benítez por su ayuda y participación como sinodales.

Agradezco todo el apoyo del Posgrado en Ciencias Físicas y el apoyo financiero de la DGEP y CONACYT , que permitieron la conclusión de mis estudios de maestría.

*A Salomón,*

*Con tu amor, todo es posible.*

*. « ¿Por qué permites estas cosas?, ¿por qué no haces nada para solucionarlo? »*

*Durante un rato, Dios guardó silencio. Pero aquella noche, de improvviso, me respondió:*

*«Ciertamente he hecho algo. Te he hecho a ti»*

*("El canto del pájaro" Anthony de Mello s.j.)*



## INDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN.....	2
III.	JUSTIFICACIÓN.....	3
IV.	ANTECEDENTES.....	5
	4.1 Sistema Inmunitario.....	5
	4.1.1 Linfocitos B.....	5
	4.1.2 Linfocitos T.....	5
	4.1.3 Células Presentadoras de Antígeno.....	6
	4.2 Virus del SIDA.....	6
	4.3 Terapias contra el VIH-1.....	11
	4.4 Diferencias de género en la carga viral.....	12
	4.5 Inicio del Tratamiento.....	13
V.	PROTOCOLO.....	15
	5.1 Planteamiento del problema.....	15
	5.2 Preguntas específicas.....	15
	5.3 Hipótesis.....	15
	5.4 Objetivos de trabajo.....	16
	5.4.1 General.....	16
	5.4.2 Específicos.....	16
	5.5 Sujetos, material y métodos.....	17
	5.5.1 Lugar.....	17
	5.5.2 Diseño.....	17
	5.5.3 Universo de trabajo.....	18
	5.5.4 Variables.....	18
	5.5.5 Definición de las variables.....	19
	5.5.6 Descripción general del estudio.....	21
	5.5.7 Análisis de datos.....	21
	5.6 Recursos humanos, físicos y financieros.....	22
	5.7 Consideraciones éticas.....	22
VI.	RESULTADOS.....	23
	6.1 Base de datos y cuantificación de casos.....	23
	6.2 Distribución de los datos.....	24
	6.3 Comparación inicial de la carga viral y distribuciones de los datos....	25
	6.4 La influencia del conteo linfocitario.....	28
	6.5 La influencia de la edad.....	31
	6.6 Los casos pediátricos.....	33
	6.7 El efecto del tratamiento.....	34
	6.8 Tablas de contingencia y el tratamiento.....	37
	6.9 El tratamiento y la edad.....	41
	6.10 El tratamiento y el conteo linfocitario.....	45
	6.11 Correlación entre las variables .....	52
	6.12 El análisis de regresión.....	55
	6.13 Falla virológica.....	59
	6.14 La dinámica viral y el modelo de los tres compartimentos.....	60

<b>VII.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>71</b>
	7.1 La Controversia.....	71
	7.2 El endotelio.....	71
	7.2.1 Las células endoteliales, el VIH y los coeficientes cinéticos.....	72
	7.2.2 La función endotelial, el género y la edad.....	74
	7.2.3 La función endotelial y el tratamiento.....	76
	7.3 Otras alternativas.....	76
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>77</b>
<b>IX.</b>	<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>79</b>
<b>X.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>80</b>
	Anexo 1: Determinación sérica de la carga viral.....	S1
	Anexo 2: Determinación sérica de linfocitos CD4+.....	S2

## I. RESUMEN

Estudios retrospectivos recientes realizados en diversas partes del mundo con datos de individuos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana VIH-1, muestran que la cantidad de virus VIH-1 en el plasma sanguíneo de pacientes de sexo masculino puede ser hasta tres veces mayor que en pacientes del sexo femenino durante la etapa asintomática de la enfermedad. Sin embargo, estos resultados son controversiales y se observa que ambos sexos progresan al SIDA en períodos de tiempo similares. En este trabajo se construyó una base de datos de más seis mil pacientes mexicanos del Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza (IMSS D.F.) y se realizó un análisis epidemiológico de las diferencias en la dinámica de la infección de acuerdo con el género de los pacientes, edad, estado inmunitario y tratamiento. Los resultados indican que en individuos no tratados, los hombres presentaron significativamente mayor carga viral que las mujeres, lo cual no se observó para el caso de pacientes bajo tratamiento antirretroviral. Con el propósito de entender dicho comportamiento, en esta investigación se empleó un modelo matemático multicompartamental para la dinámica del virus que involucra el plasma sanguíneo, el tejido linfático y las células foliculares dendríticas, y se consideraron las diferencias existentes en la función endotelial entre hombres y mujeres y su posible relación con la eliminación y transferencia del virus. Estos resultados pueden repercutir en el inicio y elección de las terapias administradas a los pacientes.

## II. INTRODUCCIÓN

El SIDA, representa un reto en la actualidad para diferentes disciplinas y hacerle frente es una necesidad imperante, principalmente en los países del tercer mundo donde se ha propagado más rápidamente ante las condiciones de pobreza y desinformación que prevalecen. Hasta ahora no se ha encontrado una cura, pero sí se han logrado resultados que develan el proceso de la enfermedad, lo cual representa un avance significativo que nos acerca al desarrollo de tratamientos más efectivos y accesibles y a largo plazo al desarrollo de vacunas o a su curación. La aplicación de modelos dinámicos y sistemas complejos al problema representan una forma viable de aproximarse al problema.

Artículos recientes reportan diferencias representativas en la carga viral (concentración de copias de RNA viral en sangre) inicial medida entre hombres y mujeres, pese a que la diferencia de géneros no provoca diferencias en el avance de la enfermedad [1]. El determinar y comprender dichas diferencias puede acercarnos más a comprender la dinámica de la infección. Así mismo, las medidas de carga viral se emplean como indicadores auxiliares para determinar el inicio de la terapia que recibe el paciente, y de existir diferencias representativas para cada género, el no tomarlas en cuenta podría incluso repercutir en el éxito del tratamiento.

Este trabajo de investigación se enfoca principalmente en determinar si existen diferencias en la dinámica viral entre hombres y mujeres infectados por el VIH. Empleando el monitoreo en población mexicana de pacientes infectados con el VIH mediante subsecuentes mediciones de RNA viral en plasma se creó una base de datos. Con los datos obtenidos de pacientes a lo largo de las diferentes etapas de la enfermedad bajo terapia antirretroviral, en este trabajo se analizan las diferencias entre los pacientes asociadas al género. Con base a un modelo dinámico tricompartmental previamente propuesto [2], se simulan y discuten las diferencias encontradas en la dinámica y se propone una probable explicación biológica para dichas diferencias.



### III. JUSTIFICACIÓN

#### El Problema del SIDA en México.

En la actualidad el virus de inmunodeficiencia humana VIH, causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), ha provocado una epidemia mundial. La enfermedad se reportó por primera vez en 1981 en los Estados Unidos en las ciudades de Nueva York, Los Ángeles y San Francisco, donde los pacientes encontrados presentaban infecciones oportunistas inusuales. La evaluación de los pacientes reveló que tenían en común una marcada deficiencia en la respuesta inmune y una disminución significativa en la subpoblación de células T CD4. La mayoría de los afectados eran hombres homosexuales. Conforme los casos de SIDA aumentaron al igual que su reconocimiento en todo el mundo, se encontró que las personas que se encontraban en riesgo de contraer la enfermedad eran los hombres homosexuales, los individuos promiscuos heterosexuales de ambos sexos, consumidores de drogas intravenosas, personas que habían recibido transfusiones sanguíneas no seguras, e infantes nacidos de madres infectadas con el VIH, y aunque a la fecha se reconoce que estas son las formas de transmisión se desconoce el mecanismo preciso por el cual el virus infecta a un individuo.

Desde su descubrimiento la enfermedad ha adquirido proporciones epidémicas en todo el mundo. Aunque todos los casos de SIDA deberían reportarse, no existen números reales que incluyan sin falta todos los casos. A finales del 2006, ONUSIDA estimó que a nivel mundial existen 39.5 millones de personas que viven con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), de los cuales 37.2 millones eran adultos, 17.7 millones mujeres, y 2.3 millones menores de 15 años. Cada día cerca de 11 mil personas se infectan por el VIH en todo el mundo, cerca de 4.3 millones de personas contrajeron la infección en el 2006. Únicamente durante el 2006, el SIDA causó 2.9 millones de muertes en todo el mundo [3].

A pesar de que América Latina y el Caribe tienen una epidemia más reciente, el número de infecciones por VIH rebasó la cifra de 2 millones de infecciones (1.7 millones en América Latina y 250 mil producidas en el Caribe). De manera global en todas las regiones del mundo, hoy hay más mujeres adultas (mayores de 15) viviendo con la infección del VIH que nunca antes. Los 17.7 millones de mujeres viviendo con el VIH en el 2006 representaron un incremento de cerca de un millón en comparación con 2004. En América Latina el número de mujeres infectadas continúa creciendo [3].

En México, desde 1983, año en que se reportó el primer caso, hasta noviembre del 2006, en el Registro Nacional de Casos de SIDA se contabilizaron en forma acumulada 107,635 casos de SIDA, de los cuales el 83% son hombres y el 17% son mujeres [4]. Por cada cinco casos acumulados de VIH-1 en hombres se ha observado un caso en mujeres. En México la principal vía de transmisión del VIH-1 es la sexual y se concentra fundamentalmente en hombres que tienen sexo con hombres, aunque también se ha observado que entre las mujeres, al igual que en el resto de Latinoamérica, es en donde más rápidamente ha aumentado la tasa de infección. De acuerdo con estimaciones de Centro Nacional para la Prevención y Control del Sida (CENSIDA) en México existen 182 mil personas adultas infectadas por el VIH. Las personas de 15 a 44 años de edad, constituyen el grupo más afectado con 78.7% de los casos registrados [4]

<b>Cifras de VIH/SIDA en México</b>	
<b>Casos notificados (hasta el 2006)</b>	<b>107,625</b>
<b>Personas viviendo con VIH (2006)</b>	<b>182,000</b>
<b>Casos nuevos anuales de SIDA (2006)</b>	<b>4,382</b>

Cuadro 3.1. Casos de Sida en México Fuente: Registro Nacional de Casos de SIDA

Sexo	Número	Porcentaje
Hombres	89,305	83.0%
Mujeres	18,320	17.0%
<b>Total</b>	<b>107,625</b>	<b>100.0%</b>

**Cuadro 3.2 Casos registrados hasta Nov. 2006 Fuente: Registro Nacional de Casos de SIDA**

Uno de los factores que ha contribuido a distribuir el virus es el largo periodo, después de la infección, en el que no existen signos clínicos aparentes y durante el cual el individuo puede infectar a otros. Por ello es de suma importancia que se difundan las medidas precautorias para evitar la proliferación de la enfermedad. Estas medidas han sido efectivas en los países desarrollados, sin embargo en regiones más pobres como América Latina, han sido más difíciles de implementar debido a la situación económica y cultural. Es por tanto de suma importancia, encontrar terapias efectivas y baratas que puedan ser aplicadas con facilidad en regiones apartadas que no cuentan con los servicios médicos adecuados, o desarrollar métodos para optimizar las terapias actuales.

El número de personas que viven con el VIH continúa creciendo. Desde que se identificaron los primeros casos de SIDA, en 1981, han fallecido más de 20 millones de personas [3]. Pese a que al inicio de la epidemia la mayoría de la población infectada era de sexo masculino, las mujeres están cada vez más expuestas al riesgo de contraer esta infección, acumulando actualmente en todo el mundo cerca del 48% del total.

Ante este panorama global y nacional es imperante la colaboración interdisciplinaria que nos permita comprender mejor los mecanismos de la infección y erradicar esta grave epidemia.

Las evidencias indican que pueden existir diferencias en la dinámica viral entre hombres y mujeres infectados con el VIH-1. Comprender mejor los factores asociados a dichas diferencias permitirá, entender mejor los mecanismos asociados a la enfermedad, el desarrollo de mejores modelos teóricos que permitan predecir la dinámica viral de cada paciente, así como proponer criterios para el refinamiento de los protocolos terapéuticos existentes de manera que incluyan las diferencias de género en la toma de decisiones. Al mismo tiempo un mejor conocimiento de los mecanismos básicos de la patogenicidad del virus, representa un avance significativo que nos acerca al desarrollo de tratamientos más efectivos y accesibles.

## IV. ANTECEDENTES

### 4.1 El sistema inmunitario [5,6,7,8,9]

El sistema inmunitario es un sistema de defensa compuesto por dos subsistemas, uno innato y otro adaptativo que evolucionó en los vertebrados para protegerlos de los microorganismos patógenos invasores y del cáncer. Es capaz de generar una enorme cantidad de células y moléculas capaces de reconocer específicamente y eliminar una variedad aparentemente ilimitada de moléculas de invasores extraños. Estas células y moléculas actúan en consonancia en una red dinámica y adaptable de gran complejidad.

Funcionalmente, una respuesta inmunológica puede dividirse en dos actividades interrelacionadas entre sí: **reconocimiento** y **respuesta**. El sistema inmunológico es capaz de distinguir patógenos extraños de las propias células y proteínas y a su vez distinguir patógenos entre sí, y a través de la participación de diversas células y moléculas se lleva a cabo la **función efectora** que es la respuesta para eliminar y neutralizar al patógeno.

La respuesta del sistema inmunológico involucra diversos tipos de células, tales como los linfocitos y células presentadoras de antígeno. Los linfocitos son unas de las células producidas en la médula espinal durante la *hematopoyesis*. Los linfocitos al dejar la médula espinal circulan por la sangre y el sistema linfático y residen en diversos órganos linfáticos. Los atributos de especificidad, diversidad, memoria y reconocimiento son mediados por los linfocitos. Existen dos tipos de poblaciones de linfocitos: **linfocitos B** y **linfocitos T**.

#### **4.1.1 Linfocitos B**

Tras madurar en la médula espinal, los linfocitos B dejan la médula expresando un receptor antigénico único en su membrana, y se trata de un anticuerpo formado por cadenas polipeptídicas. Cuando un linfocito B encuentra el antígeno que corresponde a su receptor específico, la célula comienza a dividirse rápidamente. Su progenie se diferencia entre *linfocitos B de memoria*, y *células plasmáticas*. Las células B de memoria expresan el mismo receptor de antígeno en su membrana que la madre. Las células de plasma no producen receptores de antígeno en la membrana, sino que producen el anticuerpo de manera que puede ser secretado. Las células plasmáticas viven solo algunos días pero pueden secretar enormes cantidades de anticuerpo durante su vida. Los anticuerpos secretados representan los principales efectores de la inmunidad humoral.

#### **4.1.2 Linfocitos T**

Los linfocitos T también son producto de la hematopoyesis de las células madre de la médula espinal. A diferencia de las células B, que maduran en la médula, las T migran al timo para madurar. Durante su maduración en el timo, las células T desarrollan un receptor de antígeno específico en su membrana, compuesto de dos cadenas de proteínas unidas por enlaces de disulfuro. Las terminales de aminoácidos de las dos cadenas se doblan para unirse formando un receptor de antígeno. A diferencia de los linfocitos B, los linfocitos T pueden reconocer un antígeno sólo en asociación con proteínas de la membrana celular conocidas como **complejo principal de histocompatibilidad** (MHC). Cuando un linfocito T encuentra al antígeno asociado con una molécula MHC en la célula, la célula T prolifera y se diferencia en muchas células T de memoria y células T efectoras.

Existen dos subpoblaciones de células o linfocitos T: el linfocito T colaborador ( $T_H$ ) y el linfocito T citolítico ( $T_C$ ). Los linfocitos colaboradores y citolíticos pueden distinguirse por que presentan una de dos glicoproteínas en la membrana ya sea CD4 o CD8. Las que presentan la glicoproteína CD4 generalmente funcionan como células colaboradoras, y las que presentan CD8 como citolíticas. Ante el reconocimiento de un antígeno y al MHC, las células  $T_H$  secretan varios factores de crecimiento conocidos en conjunto como citoquinas o más específicamente linfoquinas. Una vez que una célula  $T_H$  se activa, se vuelve una célula efectora al secretar

diversas citoquinas. Estas sustancias desempeñan un papel importante en la activación de los linfocitos B, los T<sub>C</sub>, células fagocíticas y otras células que participan en la respuesta inmune. Cambios en las citoquinas producidas por el linfocito colaborador representan cambios cualitativos en el desarrollo de la respuesta. Es bajo la influencia de las citoquinas que las células T<sub>C</sub> reconocen al antígeno junto con las moléculas MHC, y el T<sub>C</sub> prolifera y se diferencia en una célula llamada linfocito T citotóxico (CTL). Las células CTL generalmente no secretan citoquinas sino más bien adquiere una actividad citotóxica. El CTL tiene entonces un papel vital en el monitoreo de las células del cuerpo y en eliminar aquella que están presentando al antígeno, como ocurre con células infectadas por un virus, células tumorales, y células de un injerto de tejido extraño. En años recientes se encontró evidencia clara de la existencia de linfocitos T que suprimían la respuesta inmune, tanto humoral como celular. Originalmente nombradas como células T supresoras (Ts) actualmente se conocen como linfocitos T reguladores (T<sub>R</sub>). Existen varios subtipos (T<sub>reg</sub>, Tr1, Th3) capaces de secretar poderosos inmunosupresores que inhiben la respuesta inflamatoria y la producción de anticuerpos cuya principal función sea probablemente la proteger el organismo de un desorden autoinmune.

#### **4.1.3 Células Presentadoras De Antígeno**

La activación de las ramas humorales y celulares de la respuesta del sistema inmunológico requiere de las linfocinas producidas por los linfocitos T<sub>H</sub>. Es esencial que la activación de las células T<sub>H</sub> sea cuidadosamente regulada porque una respuesta inapropiada de las células T<sub>H</sub> a los componentes propios del organismo puede tener consecuencias autoinmunes fatales. Para asegurar esta regulación, la célula T<sub>H</sub> puede activarse después del reconocimiento del antígeno, únicamente cuando el antígeno es presentado junto con las moléculas MHC en la superficie de células especializadas conocidas como Células presentadoras de antígeno (APC's). Este grupo de células, incluye a macrófagos, linfocitos B y células dendríticas, y puede distinguirse por la expresión de un tipo particular de molécula de MHC. Estas células son las que mediante fagocitosis o endocitosis internalizan al antígeno, y expresan una parte de él, junto con moléculas MHC, en su membrana. Entonces la célula T<sub>H</sub> reconoce al antígeno asociado con la molécula MHC en la membrana de la célula presentadora de antígeno.

#### **4.2 El virus del SIDA**

El virus causante del SIDA es un retrovirus (Fig. 4.1). Los retrovirus codifican su información genética en forma de RNA, y cuando el virus logra entrar a la célula, el RNA es transcrito a DNA, gracias a una enzima portada por el virus llamada transcriptasa reversa.

El retrovirus HIV-1 causante de la mayor parte de casos de SIDA requiere de adherirse a la célula blanco y entrar en ella. El HIV-1 infecta células T con el antígeno CD4 en su superficie (T<sub>H</sub>), aunque cierta cepa del virus infecta monocitos y otras células que tienen también el antígeno CD4 en su superficie. La preferencia por las células CD4+ se debe a la alta afinidad entre la proteína de envoltura (Env) del VIH-1 y la superficie de la célula CD4+. El complejo Env se compone de una subunidad transmembranal gp41 y una subunidad externa gp120. Aunque el virus se une con el antígeno CD4 de la superficie de la célula blanco, esta interacción no es suficiente para su entrada, ya que la expresión de otras moléculas de superficie o correceptores presentes tanto en células T como en monocitos son necesarios para la infección. La infección de las células T es asistida por el correceptor CXCR4, y en monocitos el análogo es el receptor CCR5. El primer paso del proceso de infección implica la unión de las subunidades gp120 a las moléculas CD4, lo cual induce un cambio de configuración que promueve la unión secundaria de la proteína gp120 al correceptor de quimiocinas. La unión de este correceptor induce a su vez, un cambio de configuración de la proteína gp120 que promueve la fusión con la membrana viral. Después de que el virus ha entrado en la célula, la transcriptasa reversa invierte el proceso normal de transcripción y hace una copia del RNA del genoma viral, en forma de DNA llamada provirus. Éste se integra en el genoma celular, y se transcribe en varios fragmentos de RNA mensajero que son traducidos a proteínas que juntas completarán una nueva copia del RNA del virus y se usará para formar nuevas partículas virales

(Fig. 4.2). Las llamadas proteínas gag del virus son cortadas por la proteasa viral para formar lo que será la capsida nuclear del virus. Son estas diferentes etapas de la replicación viral los blancos para los diferentes fármacos anti-virales. El provirus puede permanecer latente en la célula hasta que alguna señal regulatoria inicie el proceso de expresión. Cuando el provirus se expresa para formar nuevos viriones, la célula se desintegra al cabo de un tiempo.

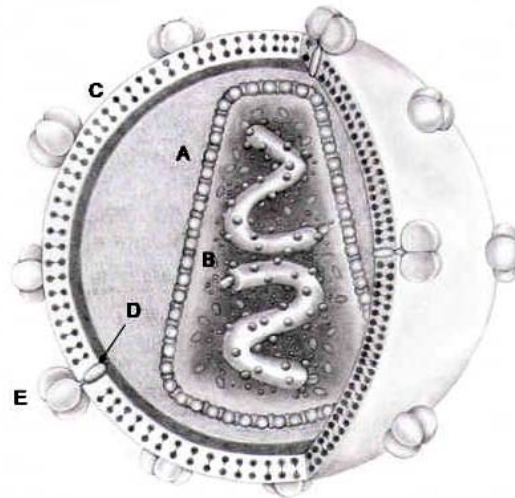


Figura 4.1. Estructura de un virión VIH. Capside (A). RNA, proteasas, integrasas y transcriptasa reversa (B). Membrana exterior (C). Glicoproteína gp41 (D). Glicoproteína gp120 (E) –(Dibujo de Estefanía Quesnel)

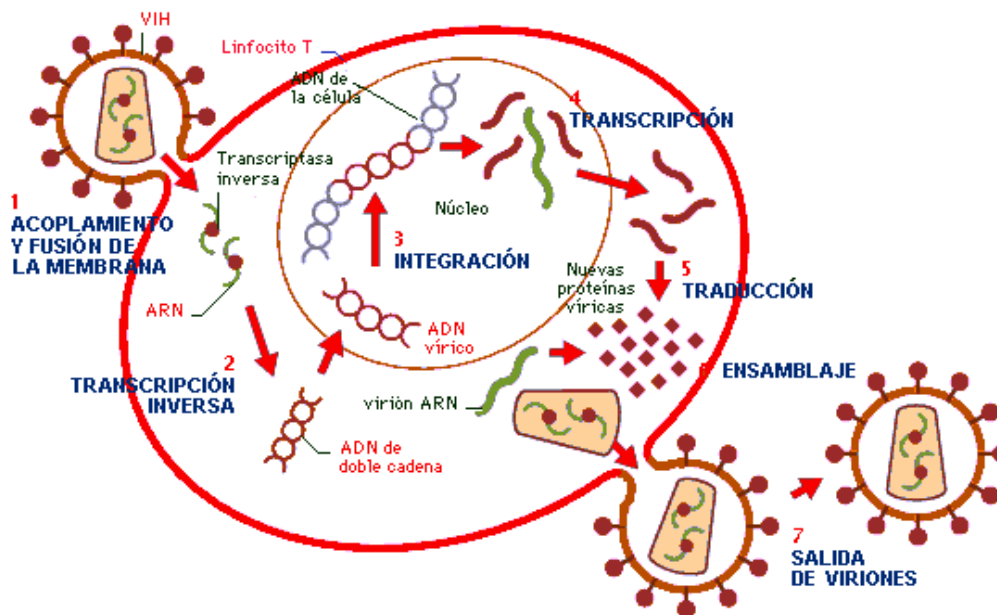


Figura 4.2 Entrada del Virus a la célula hospedera.

El aislamiento del VIH-1 y su crecimiento en cultivos ha permitido purificar las proteínas virales y desarrollar pruebas para determinar la infección. Las pruebas más comúnmente usadas evalúan la presencia de anticuerpos dirigidos contra las proteínas del VIH-1. Estas generalmente aparecen en el suero de individuos infectados alrededor de tres meses después de la infección. Cuando los anticuerpos aparecen, se dice que el individuo se ha seroconvertido o se ha vuelto seropositivo para el VIH-1. Aunque el curso de la infección y de la enfermedad varía considerablemente en cada paciente, existen esquemas que indican la progresión general del SIDA.

El curso de la infección del VIH-1 comienza sin ningún anticuerpo detectable o virus y progresa hasta presentar los síntomas del síndrome o SIDA. El diagnóstico de SIDA incluye el

haber detectado evidencia de infección con el VIH-1 (anticuerpos o virus en sangre), una disminución considerable en el número de células T CD4+ (<200 células/microlitro), y la ocurrencia de infecciones oportunistas. Los pacientes con SIDA comúnmente sucumben ante enfermedades como la tuberculosis, neumonía, diarrea o tumores diversos. Antes de la aparición de los tratamientos antivirales altamente efectivos, el tiempo entre la adquisición del virus y la muerte por inmunodeficiencia es en promedio entre nueve y doce años. Durante el periodo comprendido entre la infección y la enfermedad severa existen pocos síntomas. La infección primaria en sólo algunos pacientes será sintomática, acompañada de fiebre, inflamación de los nódulos linfáticos y/o erupciones cutáneas, pero estos síntomas, que constituyen el llamado Síndrome retroviral agudo, generalmente no persisten más de unas semanas. Comúnmente la infección primaria permanece desapercibida y continúa así durante una fase crónica larga durante la cual el paciente no presenta signos de infección. La primera indicación de SIDA es generalmente una infección oportunista debida al hongo *Candida albicans*, que causa infecciones vulvovaginales en las mujeres o infecciones en la boca que no responden al tratamiento. De igual manera puede ser indicador la infección en los pulmones debida a *P. carinii*. Un aumento en el nivel de virus circulante en plasma concomitante con una disminución en el número de células T CD4+ generalmente anteceden a la aparición de estos síntomas.

Fase de la enfermedad	Característica clínica
Enfermedad aguda por VIH	Fiebre, cefalea, faringitis, adenopatías generalizadas, exantemas.
Periodo de latencia clínica	Reducción del recuento sanguíneo de células T CD4+
SIDA	Infecciones oportunistas: Protozoos (Toxoplasma, Pneumocystis carinii, Cryptosporidium) Bacterias (Mycobacterium avium, Nocardia, Salmonella) Hongos (Candida, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum) Virus (citomegalovirus, herpes simple, varicela-zóster) Tumores Linfomas Sarcoma de Kaposi Carcinoma de cuello uterino Encefalopatía Síndrome de consunción

Cuadro 4.1 Características clínicas de VIH-1

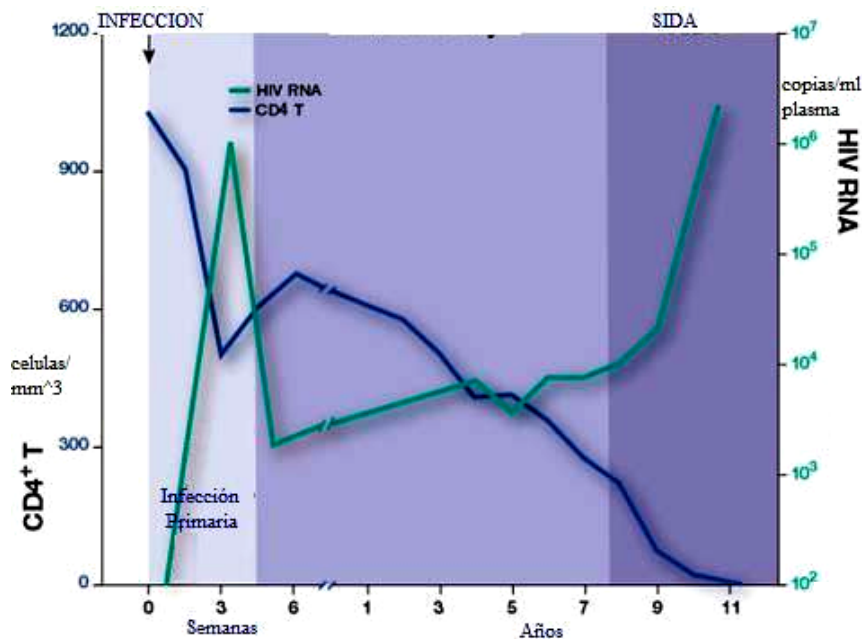


Figura 4.3. Evolución clínica de la enfermedad

Son los eventos que ocurren entre la entrada del VIH-1 y el colapso del sistema inmune hospedero, los de principal interés para las investigaciones actuales. El entender como el sistema inmune convive con el VIH-1 durante la fase crónica puede encaminar al diseño de estrategias terapéuticas y preventivas más eficaces.

La infección inicial causa la diseminación del virus en los órganos linfoides y genera una fuerte respuesta inmune resultante. Esta respuesta que involucró tanto anticuerpos como linfocitos citotóxicos CD8 T, mantienen la replicación viral controlada; tras un aumento rápido en la viremia inicial (altos niveles de virus circulante en sangre) el nivel de virus circulante alcanza un estado estable. Aunque el individuo infectado normalmente no presenta signos clínicos de la infección en esta etapa, la replicación viral continua y el virus puede ser detectado en la circulación mediante ensayos de PCR muy sensibles para RNA viral. Estos ensayos miden la carga viral (numero de copias del genoma viral en el plasma) y han tenido un papel determinante en la determinación del estado y pronóstico del paciente. Aun cuando el nivel del virus en la circulación se mantiene estable, se producen grandes cantidades de virus en las células T CD4+ infectadas y continuamente están infectando y destruyendo a las células T hospederas (Fig. 4.3). Pese a una alta tasa de replicación, el virus se ve limitado por el sistema inmune a lo largo de la fase crónica de infección, y el nivel de virus en la circulación seis meses después de la infección es un buen indicador del curso de la enfermedad. Niveles bajos en este periodo correlacionan con un periodo más largo antes de que el individuo se vea afectado por las infecciones oportunistas. En cualquiera de los casos, sin embargo, el virus inevitablemente desgasta las defensas inmunológicas del individuo, resultando esto en un incremento en la carga viral, disminución en los números de células T CD4+, aumento de infecciones oportunistas, y muerte eventual del paciente (Fig. 4.3).

Mientras que la carga viral en plasma permanece relativamente estable durante el periodo crónico de la infección, el examen de los nódulos linfáticos ha revelado una historia muy diferente. Fragmentos de los nódulos obtenidos de biopsias de diferentes sujetos infectados han mostrado altos niveles de células infectadas en todas las etapas de la infección; en muchos casos la estructura de las redes foliculares dendríticas del nódulo linfático se destruye por completo por el virus después que la viremia en plasma se incrementa por encima del nivel estable.

La disminución en las células T CD4+ es la que marca el inicio del SIDA. Muchas explicaciones se han propuesto para explicar la desaparición de estas células en los pacientes. En los primeros estudios se atribuían como causa primaria la infección viral directa y la destrucción consecuente de las células; sin embargo, de acuerdo con los altos niveles de virus circulante los números de células T infectadas que predice este modelo no se encuentran en pacientes. Estudios más recientes indican que la dificultad de encontrar las células infectadas puede deberse al hecho de que las células infectadas mueren rápidamente debido al VIH-1 - la vida media de las células T CD4+ activamente infectadas es menor a 1.5 días -. Existen algunas células T CD4+ que son infectadas pero que no replican activamente el virus. Estas células infectadas en forma latente persisten por largos periodos y el DNA proviral integrado se replica en la división celular junto con el DNA celular. Estudios en los que la carga viral disminuye gracias a la terapia anti-retroviral muestran un aumento concurrente en el número de células T CD4+. Estos datos soportan un modelo dinámico de interacción entre el virus y las células T, simultáneamente con altos niveles de producción viral y rápida eliminación de células infectadas. Mientras que otros mecanismos que explican parte de la desaparición de las células T CD4+, la infección debida al VIH aun permanece con muchas interrogantes.

No sólo la disminución de las células T, sino otras consecuencias inmunológicas pueden medirse en los individuos infectados durante la progresión de la enfermedad al SIDA, como la ausencia o retraso en la hipersensibilidad a antígenos a los cuales el individuo normalmente reacciona. Los niveles en suero de inmunoglobulinas (en especial IgG e IgA) muestran un remarcado incremento en los pacientes con SIDA. Este incremento probablemente se encuentra

relacionado con la desaparición de las células T CD4+ con una consecuente falta de control sobre la proliferación de las células B. Generalmente los individuos infectados pierden la habilidad de montar la secuencia de respuestas predecibles de las células T ante ciertos antígenos.

Además de las células T CD4+, otras células desempeñan un papel importante en la infección por el VIH y en la progresión de la enfermedad. Los macrófagos expresan niveles mucho menores de CD4 que los linfocitos T colaboradores, pero expresan correceptores CCR5 que son vulnerables a la infección por el VIH-1. Algunas cepas del VIH-1 pueden infectar preferentemente los macrófagos debido a que prefieren unirse al correceptor CCR5 que al correceptor CXCR4 expresado en células T. Sin embargo, los macrófagos son relativamente resistentes a los efectos citopáticos del VIH-1, posiblemente porque la expresión elevada de CD4 es necesaria para la citotoxicidad inducida. Los macrófagos también pueden infectarse mediante vías independientes como la fagocitosis de otras células infectadas o la endocitosis. Debido a que los macrófagos pueden ser infectados, pero generalmente no son destruidos por el virus, pueden convertirse en uno de los principales reservorios del mismo. De hecho, la cantidad de VIH asociado a macrófagos supera con mucho la cantidad de virus asociados a las células T en la mayoría de los tejidos de los pacientes con SIDA, incluidos el encéfalo y los pulmones. También se ha observado que los macrófagos infectados por el VIH-1 pueden experimentar un deterioro de las funciones de presentación de antígenos y de secreción de citoquinas.

Las células dendríticas también pueden ser infectadas por el VIH-1, y al igual que los macrófagos, no resultan dañadas directamente por la infección. No obstante estas células entran en estrecho contacto con las células T no estimuladas durante la presentación de antígenos. Se ha propuesto que las células dendríticas infectan a las células T no estimuladas durante estos encuentros, y pueden ser, una importante vía para la lesión de las células T.

Las células dendríticas foliculares (FDCs) de los centros germinales de los ganglios linfáticos y el bazo atrapan grandes cantidades de VIH en sus superficies ampliadas. Aunque las FDCs no son infectadas de forma eficiente, contribuyen a la patogenia de la inmunodeficiencia asociada al VIH constituyendo en su superficie un reservorio del VIH que puede infectar a los macrófagos y a las células T CD4+ en los ganglios linfáticos. Además las funciones normales de las FDCs en las respuestas inmunitarias se ven deterioradas y pueden ser destruidas con el tiempo por el virus. Aunque los mecanismos de la muerte celular de las FDCs inducida por el VIH no se comprenden, el resultado neto de pérdida de la red de FDCs en los ganglios linfáticos y el bazo provoca la disolución de la estructura del sistema de ganglios periféricos.

Los individuos infectados pueden presentar disfunciones en el sistema nervioso central y periférico, ya que el VIH-1 infecta también a las células del sistema nervioso central. Se han detectado secuencias de RNA y DNA viral en tejido cerebral de niños y adultos con SIDA sugiriendo que ahí ocurre replicación viral, y comparativamente con muestras de otros órganos, el nivel de virus en cerebro es alto. Una complicación frecuente en la última etapa de la infección es la demencia compleja, caracterizada por anormalidades cognitivas, motoras y de comportamiento. Aun se desconoce si éste y otros desordenes neurológicos podrían ser resultado de la presencia de antígenos virales en el cerebro y de la propia respuesta inmune, o bien debido a infecciones por agentes oportunistas.



### **4.3 Las terapias contra el VIH-1**

Aunque se busca en principio desarrollar una vacuna contra el virus, existen varios obstáculos que habrá que librar para lograr este objetivo. Generalmente las vacunas buscan imitar la inmunidad natural de individuos recuperados y actualmente ningún individuo se ha recuperado del SIDA. Las vacunas a su vez, sólo previenen el desarrollo de la enfermedad y no la infección en sí, por lo que la infección por el VIH-1 permanecería latente durante largos periodos antes de causar SIDA. La principal dificultad es el hecho de que el virus VIH-1 muta rápidamente y selecciona eficazmente los mutantes resistentes a la inmunidad. Otro obstáculo es el hecho de que actualmente no existe un modelo biológico animal útil para el VIH-1 que permita hacer las pruebas pertinentes. Aunque los esfuerzos continúan, la investigación actual también está enfocada en el tratamiento de la infección por VIH y del SIDA.

El ciclo vital del virus muestra diversos puntos susceptibles de ser bloqueados por agentes farmacéuticos. La clave para el éxito de dichas terapias es que deben ser específicas para el VIH-1 e interferir lo mínimo posible con los procesos de las células normales. Hasta ahora dos tipos de agentes antirretrovirales son los más comunes en el tratamiento. El primer tratamiento exitoso lo constituyeron los fármacos que interfieren con la transcripción de RNA viral a cDNA, y en la actualidad son muchos los medicamentos que actúan en este paso. Otro paso de la replicación viral que ha sido susceptible de bloqueo es cuando las proteínas son cortadas en unidades necesarias para la construcción de un nuevo virión maduro, por lo que se requiere emplear proteasas virales específicas que puedan ser inhibidas por agentes químicos de manera que se prevenga la formación de nuevas partículas virales infecciosas. Muchos fármacos antirretrovirales se emplean actualmente en los tratamientos que interfieren tanto con la transcripción inversa o inhibiendo la proteasa; sin embargo, todos generan efectos secundarios en el paciente de diferente índole que van desde náusea y diarrea hasta anemia, hepatitis, o intolerancia a la glucosa.

La terapia más empleada actualmente es una combinación de inhibidores de proteasa junto con dos análogos de nucleótidos (como el AZT) que inhiben la actividad de la transcriptasa inversa. Esta terapia triple conocida comúnmente como HAART (del inglés highly active antiretroviral therapy) ha demostrado ser muy eficaz en la reducción plasmática del ARN viral a niveles indetectables en la mayoría de los pacientes tratados durante años, logrando superar la habilidad del virus de rápidamente producir mutantes resistentes a los fármacos. En la actualidad no se sabe si se desarrollará resistencia a este tratamiento mantenido durante periodos más largos. Además, teóricamente podrían ser necesarios decenios de farmacoterapia antiviral para erradicar los reservorios de las células T CD4+ latentemente infectadas y macrófagos. Dos grandes problemas asociados a estas nuevas farmacoterapias, pueden limitar su uso en muchas partes del mundo: su elevado costo y la complejidad de las pautas de su administración, ya que son muchas las pastillas que deben tomarse en horarios muy estrictos. Además existen diversos efectos secundarios que pueden presentarse y ser muy severos en algunos pacientes y pese a que esta terapia disminuye considerablemente los niveles de viremia en sangre, el virus persiste en sitios como el cerebro que no son penetrados por los fármacos antirretrovirales. El uso de moduladores como IL-2 recombinante en conjunción con HAART se ha empleado como estrategia para ayudar a reconstruir el sistema inmune y restaurar sus funciones normales.

Existen otros fármacos en desarrollo como los fármacos que bloquean la entrada del VIH a las células que podrían ser eficaces en la prevención de la progresión del SIDA. Hasta la fecha se ha tenido relativamente poco éxito con anticuerpos o con ligandos solubles que interfieren en las interacciones de la envoltura. La industria farmacológica trabaja constantemente, sin embargo, cualquier nuevo fármaco debe pasar por un arduo proceso de pruebas de seguridad y eficacia antes de ser empleado. Otro tipo de fármacos promisorios, que en breve serán introducidos al mercado, son aquellos que interfieren con la integración del DNA viral en el genoma hospedero (inhibidores de integrasas).

#### **4.4 Diferencias de género en la carga viral**

El entendimiento de la carga viral en los pacientes ha evolucionado enormemente desde mediados de la década de los noventa cuando se aprueban y se extiende el uso de las primeras pruebas de carga viral. Posteriormente empezaron los estudios clínicos sobre el papel de la carga viral como marcador de la infección principalmente en grupos de pacientes del sexo masculino. Las mujeres que se llegaban a incluir en estos estudios no eran suficientes para preguntarse si existían diferencias asociadas al sexo en la carga viral. Finalmente con el aumento constante de la población femenina infectada, ha permitido que en la actualidad dichas diferencias puedan explorarse.

Diversos estudios han sugerido que los niveles de carga viral medidos en plasma son más bajos en mujeres adultas en comparación con su contraparte masculina [10,11,12,13]. Un total de siete estudios transversales [13] demostraron que las mujeres tienen entre 0.13 y 0.35  $\log_{10}$  menor carga viral que los hombres, lo cual corresponde a una concentración de RNA viral de aproximadamente la mitad de la observada en hombres, aun después de tomar en cuenta los conteos de linfocitos CD4 en sangre correspondientes. En otros cuatro estudios longitudinales [13], las mujeres presentaron entre 0.33-0.78  $\log_{10}$  (de 2 a 6 veces) menor carga viral que los hombres para estados similares de la infección controlando el tiempo transcurrido desde la seroconversión. En los diferentes estudios cuando se tomaron cuenta otras variables como edad, grupo étnico y uso de terapia antirretroviral, llegaron a observarse variaciones en la magnitud de las diferencias, pero el resultado fue siempre el mismo, una menor carga viral en las mujeres. Por otro lado, estos resultados son controversiales ya que otros estudios también reportan no haber encontrado dicha diferencia en la carga viral[13,14]

En cohortes de individuos anglosajones no tratados, se ha observado que pacientes masculinos en la etapa asintomática muestran una viremia que puede ser el doble que la de pacientes femeninas [2]; sin embargo, ambos sexos progresan al SIDA en periodos de tiempo similares. Esto tiene connotaciones importantes ya que una carga viral más baja no corresponde a un menor riesgo de progresión de la enfermedad para el caso de las mujeres, lo cual también podría implicar que las mujeres progresen al SIDA para cargas virales más bajas que los hombres con similares cuentas de linfocitos CD4.

Otro ejemplo es un artículo publicado en la revista HIV Medicine[15], en el cual se realiza un análisis y caracterización de la dependencia de la carga viral con el género en diferentes grupos raciales y como función del conteo de linfocitos T CD4+. El estudio que analiza más de 30 000 pacientes tanto de Estados Unidos como de Holanda, encuentra una consistentemente mayor carga viral en hombres que en mujeres cuando el conteo de linfocitos T CD4+ es mayor que 350células/ $\mu$ L. Sin embargo, por el contrario, para conteos de T CD4+ menores que 50células/ $\mu$ L se observa consistentemente menores cargas virales en hombres que en mujeres. Estas diferencias fueron consistentes incluso para diferentes grupos raciales, aunque se encontraron variaciones entre las poblaciones negra, blanca, e hispana. De igual forma otro estudio reporta que el grupo racial es una variable relevante en las variaciones de la carga viral [16]. Hasta la fecha no se conocen estudios previos en población mexicana.

En cuanto a las razones relacionadas con las diferencias encontradas se ha propuesto la existencia de una correlación de la diferencia en la carga viral asociada al género con los diferentes niveles hormonales de los pacientes infectados. Diferentes investigadores han realizado mediciones de la carga viral en sangre y en tracto genital para entender como influyen las hormonas reproductivas y los anticonceptivos pueden influir en la carga viral de las mujeres. Se han encontrado variaciones y diferencias en la carga viral a lo largo del ciclo menstrual [17,18]. Sin embargo aún falta mucho conocer acerca de estas diferencias y diversas investigaciones, incluyendo la presente, buscan mejorar nuestro entendimiento del fenómeno para optimizar así el cuidado y tratamiento de las y los pacientes infectados por VIH.

## **4.5 Inicio del Tratamiento**

Regularmente y de acuerdo con las investigaciones más recientes y los estudios epidemiológicos correspondientes se publican y actualizan las recomendaciones en los diferentes países sobre el manejo de los pacientes infectados por el VIH. Tanto en las guías publicadas por el instituto de salubridad de los Estados Unidos de Norteamérica (NIH) [19], así como las publicadas por las diferentes instituciones gubernamentales de salud en México [20] se pueden leer los criterios más recientes e internacionalmente aceptados para el inicio del tratamiento antirretroviral. En la actualidad sigue sujeto al debate el momento óptimo para el comienzo del tratamiento antirretroviral en pacientes asintomáticos cuyas cifras de CD4 no suponen un riesgo de enfermedades oportunistas o progresión de la enfermedad.

El inicio del tratamiento antirretroviral en etapas tempranas (cuenta de CD4 > 350 células/ $\mu$ l) puede ofrecer beneficios como suprimir la replicación viral al máximo, conservar la función inmunitaria antes de que ésta se deteriore irreversiblemente, prolongar el bienestar y la vida de la persona, reducir el riesgo de resistencia a los medicamentos como resultado de la supresión temprana de la multiplicación viral con un tratamiento potente, disminuir la toxicidad de los medicamentos con un mejor tratamiento, y posiblemente la disminución del riesgo de transmisión viral [20]. Sin embargo estos beneficios se ven limitados por riesgos importantes asociados con el uso prolongado de antirretroviral, como son: el impacto en la calidad de vida, la posibilidad de un apego inadecuado al tratamiento a largo plazo (con el consiguiente desarrollo de resistencia), posibles interacciones farmacológicas, y la aparición de efectos tóxicos a corto y largo plazo, algunos de ellos reconocidos recientemente (como los efectos cardiovasculares)[20].

Actualmente se sugiere un inicio más tardío, en una etapa donde no se arriesgue una recuperación inmunitaria adecuada ni progresión de la enfermedad. La cuenta de CD4 y la carga viral medida en el plasma sanguíneo, son factores que permiten predecir independientemente la progresión clínica, además de definir el riesgo de padecer infecciones oportunistas. Por tanto, deben ser tomados en cuenta, junto con la evaluación clínica del paciente, a la hora de decidir el inicio del tratamiento. De ambos marcadores, se sugiere darle más relevancia al conteo CD4 en la determinación del momento óptimo para el inicio del tratamiento. Como segundo criterio se recomienda tomar en cuenta la carga viral del paciente en la toma de decisiones, es especial en aquellos intervalos de CD4 donde no es claro el beneficio de iniciar la terapia antirretroviral.

Por lo general no se recomienda iniciar tratamiento en las personas asintomáticas que tengan cuentas de CD4 > 350 células/ $\mu$ L. Por el contrario, se recomienda iniciar tratamiento para aquellas personas con cifras de CD4 < 200 células/ $\mu$ L, independientemente del estadio clínico o de la carga viral, ya que el riesgo de progresión de la enfermedad es muy significativo. En pacientes asintomáticos con carga viral > 100,000 copias/mL, se recomienda iniciar tratamiento en vista de las altas posibilidades de progresión de la enfermedad. En pacientes con carga viral < 100,000 copias/mL, el riesgo de progresión es menor y la decisión de iniciar tratamiento antirretroviral no es urgente, por lo que debe individualizarse según las condiciones particulares de la persona y su preferencia y se deja la decisión al criterio del médico. En personas que presentan manifestaciones clínicas ocasionadas por alguna infección oportunista o neoplasia asociada con la infección por el VIH, la indicación de iniciar tratamiento antirretroviral es clara. Cabe resaltar que a diferencia de las recomendaciones aprobadas en los Estados Unidos, las recomendaciones nacionales generalmente no recomiendan tratar a un paciente con más de 350 células/ $\mu$ L mientras que las de EU recomiendan más bien tomar en cuenta la carga viral en este caso. Para el intervalo de 200-350 células/ $\mu$ L, como puede verse en el Cuadro 4.2, las recomendaciones nacionales indican tomar en cuenta la carga viral, mientras que las recomendaciones de EU señalan no tratar en la mayor parte de los casos. En general cuando un paciente asintomático tiene estos intervalos de conteo linfocitario los criterios no son contundentes y se sugiere analizar cada caso de manera individual.

En la última versión de los protocolos de tratamiento (año 2006) [19,20] se menciona la reciente controversia existente acerca de las diferencias de carga viral en hombres y en mujeres y se estipula que, aun cuando se ha demostrado que los valores de carga viral en mujeres son más bajos que en los hombres, esto no afecta el manejo de los pacientes y las recomendaciones para el inicio de tratamiento no son diferentes.

<b>Categoría Clínica</b>	<b>CD4 células/microlitro</b>	<b>Carga viral Copias ARN viral/mL</b>	<b>Recomendación</b>
<b>Infección retroviral aguda</b>	<b>Cifra indistinta</b>	<b>X</b>	<b>Ofrecer Tratamiento</b>
<b>Infección Crónica Asintomática</b>	<b>&gt;350</b>	<b>X</b>	<b>Diferir tratamiento-vigilancia</b>
	<b>200-350</b>	<b>No disponible</b>	<b>Tratamiento</b>
	<b>200-350</b>	<b>&lt;100,000</b>	<b>Individualizar-vigilancia</b>
	<b>200-350</b>	<b>&gt;100,000</b>	<b>Tratamiento</b>
	<b>&lt;200</b>	<b>X</b>	<b>Tratamiento</b>
<b>Infección Crónica Sintomática</b>	<b>Cifra indistinta</b>	<b>X</b>	<b>Tratamiento</b>

Cuadro 4.2 Criterios para el inicio de terapia antirretroviral en México de acuerdo con la SSA-CENSIIDA 2006 [20]

## **V. PROTOCOLO**

### **5.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se ha observado que indicadores clave en la infección del VIH pueden variar de acuerdo con el género de los pacientes aunque existe controversia al respecto. A su vez se reportan variaciones asociadas al grupo racial. Resulta relevante determinar si en pacientes mexicanos existirán variaciones en los niveles de carga viral. Investigaciones previas proponen como posible explicación de dichas diferencias un componente hormonal asociado por lo que a su vez resulta relevante comparar la carga viral en adultos en edad reproductiva con adultos después de la menopausia para determinar probables variaciones asociadas. El determinar la existencia de dichas diferencias y tratar de entenderlas nos acerca a su vez a un mejor entendimiento de la patogénesis asociada a la infección por el VIH.

### **5.2 PREGUNTAS ESPECÍFICAS:**

- 1) En pacientes mexicanos con VIH-1 ¿existe una diferencia estadísticamente significativa en la carga viral entre hombres y mujeres?
- 2) En pacientes con VIH-1 ¿Cuáles son las variaciones de dicha diferencia en la carga viral entre hombres y mujeres, considerando otras variables como: el conteo de linfocitos CD4+, el tratamiento recibido, la edad, etc?
- 3) ¿Podemos entender las diferencias en la carga viral en términos de un modelo matemático compartamental?
- 4) ¿Qué explicación biológica y/o fisiológica puede relacionarse con una diferencia en la carga viral entre hombres y mujeres?

### **5.3 HIPÓTESIS**

En pacientes mexicanos con VIH-1, existen diferencias estadísticamente probables en la carga viral en plasma principalmente en grupos con altos conteos de linfocitos, entre hombres y mujeres en edad reproductiva similares a las reportadas en artículos previos. En el caso de los pacientes mayores la diferencia de carga viral entre mujeres y hombres no es estadísticamente significativa.

## **5.4 OBJETIVOS DE TRABAJO**

El propósito de esta investigación es realizar un estudio retrospectivo que explore en población mexicana acerca de las diferencias observadas en la carga viral en sangre de mujeres y de hombres. La parte teórica del estudio se apoya en un modelo matemático que describe la dinámica e interrelación entre las poblaciones virales alojadas en distintos compartimientos. El análisis retrospectivo de pacientes se basa en determinaciones de las variaciones de la carga viral en pacientes mujeres y hombres y tiene como principal objetivo comprender mejor las variaciones en la dinámica viral asociadas al sexo de los pacientes, y sustentar a su vez futuros modelos teóricos que propongan explicaciones factibles a dicha diferencia.

### **5.4.1 GENERAL:**

A partir de la base de datos y la información existente de pacientes de sexo femenino y masculino infectados por el VIH-1, se busca (1) comparar la carga viral entre ambos géneros, (2) encontrar correlaciones de la diferencia en la viremia con otras variables como la edad, y (3) intentar comprender las causas de las diferencias en la viremia debidas al sexo con ayuda de un modelo teórico matemático.

### **5.4.2 ESPECIFICOS:**

1. Determinar si existe una diferencia en la carga viral medida en sangre entre hombres y mujeres mexicanos infectados con el VIH-1 a partir de un análisis retrospectivo
2. Determinar la correlación entre dicha diferencia asociada al género y otras variables involucradas (Edad, conteo de linfocitos CD4+, Tratamiento, etc.)
3. Con ayuda de un modelo matemático tricompartmental, discutir y proponer posibles factores que expliquen las diferencias en la viremia asociadas al género.

## **5.5 SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS**

### **5.5.1. LUGAR.**

- Hospital de Infectología UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio Gonzalez Garza” Centro Médico Nacional “La Raza” IMSS.

### **5.5.2. DISEÑO**

#### **i) TIPO DE ESTUDIO**

- Observacional
- Clínico
- Transversal
- Comparativo
- Retrospectivo

#### **ii) GRUPOS DE ESTUDIO**

##### **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

##### **PRIMERA FASE**

##### ***CREACION DE BASE DE DATOS:***

Diferencia robusta en la viremia en sangre asociada al género y su correlación con la edad.

##### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Mujeres y Hombres
- Con diagnóstico de infección por VIH.
- Determinación de niveles de linfocitos CD4+ en sangre periférica
- Determinación de la carga viral del VIH-1 en sangre periférica

##### **CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN**

- Ausencia de cualquiera de los siguientes datos:
  - Género
  - Edad
  - Carga viral
  - Diagnóstico de infección de VIH
  - Conteo de linfocitos CD4+
- Diferencia temporal mayor a siete días entre la determinación sérica de linfocitos CD4+ y la carga viral.

## **SEGUNDA FASE**

### **REVISIÓN DE SOLICITUDES:**

Correlación de la diferencia en la viremia asociada al género con otras variables

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Además de cumplir con los criterios de inclusión de la 1ª Fase se contaban con los siguientes datos:
  - Información sobre si ha iniciado o no un tratamiento antirretroviral.

### **CRITERIOS DE NO INCLUSION**

- Carencia de información sobre si ha iniciado o no un tratamiento antirretroviral

### **5.5.3. UNIVERSO DE TRABAJO**

Se empleó en una primera aproximación la totalidad de los pacientes atendidos a lo largo del año 2005 en el Laboratorio de Infectología del Centro Médico La Raza. A partir de una base de datos formada a través del muestreo consecutivo de la carga viral de pacientes con diagnóstico VIH-1, se creó una nueva base de datos que a su vez incluyó los conteos de linfocitos CD4+ correspondientes. En una segunda fase, con base en la información que puede contener las solicitudes con que cuenta el Laboratorio de Infectología, se amplió la base de datos con la información acerca del tratamiento de cada uno de los pacientes atendidos a lo largo del año 2005.

### **5.5.4. VARIABLES**

#### **VARIABLE INDEPENDIENTE:**

- 1) Sexo

#### **VARIABLE DEPENDIENTE:**

- 1) Conteo de ARN viral en plasma

#### **VARIABLES DE CONTROL**

- 1) Edad.
- 2) Número de linfocitos CD4+ en el plasma.
- 3) Tratamiento.



## 5.5.5 DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

### VARIABLE INDEPENDIENTE

#### SEXO:

##### **Definición conceptual:**

Condición orgánica que distingue a ciertos individuos de la misma especie con relación a su forma de intervenir en los procesos reproductivos, diferencia que permite clasificarlos como hombre o mujer [21].

##### **Definición operacional:**

El fenotipo del paciente e Historia Clínica registrada en el expediente.

##### **Indicadores:**

Fenotipo masculino o femenino.

**Escala de Medición:** Cualitativa o nominal dicotómica.

### VARIABLE DEPENDIENTE

#### 1)CARGA VIRAL:

##### **Definición conceptual**

Número de copias de RNA viral por unidad de volumen de plasma.

##### **Definición operacional**

Al tratarse de un estudio retrospectivo se utilizó la carga viral medida con anterioridad a lo largo de 2005 y reportada en la base de datos existente.

La carga viral se determinó en pacientes infectados por el VIH-1, mediante la prueba comercial AMPLICOR HIV-1 ® Test de Roche®. Esta prueba es un procedimiento de reacción en cadena de polimerasa (PCR) donde se realiza una amplificación *in vitro* de los ácidos nucleicos para realizar una cuantificación del RNA del virus de inmunodeficiencia adquirida tipo 1 (VIH-1) en el plasma humano. Es posible medir entre 50 y 750,000 copias por mililitro. Amplicor es la prueba aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos. Tiene la ventaja de incorporar diversos elementos que garantizan el control de calidad. El PCR es una relativamente nueva tecnología que permite la amplificación e identificación de secuencias específicas de ADN o ARN, incluyendo las secuencias genéticas en el VIH-1. Empleando PCR se producen billones de copias del ARN viral a partir de un segmento del genoma viral del VIH-1. La prueba permite la determinación de la cantidad de virus en una muestra en comparación con un estándar de referencia (cada muestra incluye una cantidad conocida de RNA sintético). Esta prueba es el primer sistema estandarizado que incluye todos los reactivos necesarios para cuantificar la PCR, incluyendo la preparación de la muestra, aplicación de la transcriptasa reversa, proceso de amplificación por polimerasa, detección y cuantificación de los niveles virales. Ver Anexo 1.

**Escala de Medición:** Cuantitativa discreta (copias/mL).

## **VARIABLES DE CONTROL**

### **1) EDAD**

#### **Definición conceptual:**

El diccionario de la lengua española la define como El tiempo que una persona ha vivido, a contar desde que nació [21].

#### **Definición operacional:**

El tiempo en que la persona refiere que ha vivido, identificado por entrevista directa y cotejado con el número de afiliación al Instituto Mexicano del Seguro Social.

#### **Indicadores:**

Numero de años.

#### **Escala de Medición:**

Cuantitativa discreta.

### **2) CONTEO T CD4+**

#### **Definición conceptual**

Número de células T CD4+ por unidad de volumen de plasma sanguíneo

#### **Definición operacional**

Al tratarse de un estudio retrospectivo se empleó el conteo T CD4+ reportado en la base de datos existente.

El procedimiento para determinar las cuentas absolutas de linfocitos T CD4+ depende de la identificación inmunofenotípica de las células con anticuerpos monoclonales marcados fluorescentemente unidos al antígeno CD4. Los porcentajes relativos de células T CD4+ se determinan con un citómetro de flujo. La cuenta absoluta de CD4+ se deriva de multiplicar el porcentaje de linfocitos que son CD3+ y CD4+ por la cuenta absoluta de linfocitos determinada por un instrumento hematológico. Ver Anexo 2.

**Escala de Medición:** Cuantitativa discreta (células/ $\mu$ L)

### **3) TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL**

#### **Definición conceptual:**

Tratamiento con medicamentos destinado a prevenir la replicación del virus de inmunodeficiencia humana en personas infectadas.

#### **Definición operacional:**

Se determinó de acuerdo al expediente si cada paciente evaluado recibió o no tratamiento antirretroviral a través de los inhibidores de la proteasa y /o inhibidores de la transcriptasa reversa con análogos no nucleótidos, específicamente, los cuales son los medicamentos que son incluidos en los esquemas de tratamiento antirretroviral del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional La Raza. Se consideró como esquema de tratamiento antirretroviral combinado cualquiera de los siguientes: azatavir, abacavir, convivir, saquinavir ritonavir nelfinavir, indinavir, zalcitabina, didanosina, etc.

**Escala de Medición:** Cualitativa o nominal dicotómica.

### **5.5.6. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

**En orden consecutivo se llevaron a cabo las siguientes actividades:**

1. Se complementó la base de datos existente que incluye la carga viral con el conteo de linocitos CD4+ correspondiente.
2. Empleando la misma base de datos se determinó la magnitud de la diferencia en la carga viral entre pacientes hombres y mujeres en edad reproductiva (18-45 años) y se comparó con la diferencia en la carga viral existente entre hombres y mujeres mayores (>55 años).
3. Empleando la base de datos se evaluó de manera robusta la diferencia en la carga viral entre pacientes hombres y mujeres con el conteo de linfocitos CD4+ similar. Se determinaron las variaciones de dicha diferencia de acuerdo con el conteo de linfocitos CD4+.
4. De acuerdo con las solicitudes, se determinó la dependencia de la diferencia de la carga viral según el género en pacientes con y sin tratamiento.
5. Se efectuó el análisis y la búsqueda de correlaciones entre las variables utilizando los programas de cómputo ©Excel y ©SPSS.

### **5.5.7. ANÁLISIS DE DATOS**

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

Se realizó el análisis de las diferencias entre los hombres y mujeres calculando las diferencias relativas respecto a las medianas mediante las pruebas no paramétricas Mann-Whitney y “Kruskal-Wallis”. También se utilizaron las pruebas Kolmogorov-Smirnov y Chi-Cuadrada para los casos y en las ocasiones que se especifican más adelante. Se emplearon las siguientes hipótesis en la prueba en cada grupo con conteos linfocitarios CD4+ similares:

Hipótesis de nulidad (Ho): Las diferencias observadas entre las cargas virales de hombres y mujeres son debidas al azar.

Hipótesis alternativa (Ha): Las diferencias observadas en las cargas virales son significativamente diferentes según el género del paciente.

Se incluyeron a su vez, las distintas variables de control, creando las tablas de contingencia correspondientes y midiendo su nivel y probabilidad de asociación. También se realizó un análisis de regresión lineal múltiple entre la carga viral de los pacientes y las distintas variables de control. Para evaluar los resultados se consideraron aceptables las pruebas estadísticas con un nivel de significancia de 0.05; o nivel de confianza del 95%.

## **5.6 RECURSOS HUMANOS, FÍSICOS Y FINANCIEROS**

### **HUMANOS:**

Investigadores, colaboradores, y personal del laboratorio clínico.

### **FÍSICOS:**

Archivo de solicitudes, archivo de conteos linfocitarios y base de datos del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional La Raza.

### **FINANCIEROS:**

No se requirieron recursos financieros para esta investigación

## **5.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS:**

- La identidad de cada paciente permaneció siempre confidencial, y la información clínica de cada paciente sólo fue empleada de manera exclusiva para efectos de este estudio.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 Base de Datos y cuantificación de casos.

Se construyó la base de datos, empleando la paquetería computacional ©Excel, incluyendo la totalidad de los pacientes atendidos a lo largo del 2005 en Laboratorio de Infectología del Centro Médico La Raza, quedando un total de 6613 pacientes o registros. De este número total de pacientes, como puede verse en el cuadro 6.1, algunos casos carecían de información en alguno de los campos solicitados e indispensables para este estudio: carga viral, sexo, edad, conteo CD4+ y/o tratamiento.

Campo	No. De Datos faltantes
Carga Viral	47
Sexo	43
Edad	260
CD4	613
Tratamiento	1710

Cuadro 6.1 Información faltante en algún campo

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	NUMERO	SEXO	EDAD	TRATAMIENTO	COPIAS/ML	LOG	CD4+ cel/µL	CD8+ cel/µL			
2	1	M	30.00	T	22000	4.34	293	1298			
3	2	M	38.00	S	85300	4.93					
4	3	F	38.00	N	200	2.30	547	708			
5	4	M	59.00	N	200	2.30	145	658			
6	5	M	26.00	S	38100	4.58	995	1652			
7	6	M	55.00	T	200	2.30	94	1002			
8	7	M	32.00	T	200	2.30	735	969			
9	8	M	45.00	N	2260	3.35	365	1324			
10	9	M	35.00	T	609000	5.78	114	117			
11	10	F	9.00	N	15300	4.18	665	1103			
12	11	F	35.00	T	42700	4.63	275	1160			
13	12	M	56.00	T	200	2.30	275	566			
14	13	M	31.00	T	200	2.30	415	794			
15	14	M	30.00	T	200	2.30					
16	15	M	32.00	T	200	2.30	666	1549			
17	16	M	49.00	T	6330	3.80					
18	17	M	56.00	T	200	2.30	628	1030			
19	18	M	10.00	N	39800	4.60	132	1634			
20	19	M	38.00	T	200	2.30	527	778			
21	20	M	49.00	T	536	2.73	316	1614			
22	21	M	47.00	T	1710	3.23	232	1081			
23	22	M	40.00	T	200	2.30					
24	23	M	1.50	N	750000	5.88	314	5662			
25	24	M	34.00	T	200	2.30	788	1427			
26	25	F	40.00	S	13700	4.14	370	1227			
27	26	M	31.00	S	2980	3.47	845	1072			
28	27	F	46.00	N	6100	3.79	223	1549			
29	28	M	36.00	T	200	2.30	289	545			
30	29	M	23.00	T	200	2.30	85	644			
31	30	F	42.00	N	3360	3.53	364	541			
32	31	M	38.00	T	200	2.30	491	903			
33	32	M	46.00	S	200	2.30	229	624			
34	33	F	46.00	T	200	2.30	182	1354			
35	34	M	43.00	N	9210	3.96					
36	35	M	27.00	N	18600	4.27	764	1085			
37	36	M	24.00	T	200	2.30	850	560			
38	37	M	39.00	N	200	2.30	1194	969			
39	38	M	30.00	T	200	2.30	478	1987			
40	39	M		T	200	2.30	702	552			
41	40	M	36.00	T	200	2.30	520	1657			

Figura 6.1 Base de Datos en Excel de 6613 pacientes

## 6.2 Distribución de los Datos

Las tablas de descripción estadística, así como las diferentes pruebas de hipótesis se realizaron empleando el paquete computacional ©SPSS en su versión 13.0.

Ya que el principal interés de este estudio es entender mejor la dinámica de la carga viral en los pacientes infectados por el VIH-1 y buscar su correlación con otras variables como el sexo, en una primera aproximación se analizó el comportamiento de la carga viral como variable dependiente. La siguiente tabla muestra el panorama global de la carga viral de la totalidad de los pacientes en nuestra base de datos. Nótese que se trata de datos transformados en logaritmos de base 10 ( $\text{Log}_{10}$ ), es decir, se muestran el , el promedio o media, la mediana, los valores máximo y mínimo, la moda, la desviación estándar, la varianza y el no. de datos válidos(N) de los logaritmos de la carga viral..

Media	Mediana	Máximo	Mínimo	Moda	Desviación típ. o estandar	Varianza	N válido
2.9877	2.3000	6.0000	1.4000	1.4000	1.4742	2.1732	N=6566

Cuadro 6.2 Información general sobre el logaritmo carga viral

En el cuadro 6.2 se observa que se tiene información de la carga viral de 6566 pacientes (47 casos faltantes). Generalmente, en el área clínica, para evitar el manejo de grandes números de copias de virus por mililitro, cuando habla de la concentración de virus en el plasma sanguíneo de algún paciente se hace referencia preferentemente al *logaritmo de la carga viral*, definido como el logaritmo base diez de la carga viral del paciente  $-\text{LogCargaViral} = \text{Log}_{10}(\text{Carga Viral})-$ , siendo las unidades de la carga viral copias de virus por mililitro de plasma sanguíneo. En el cuadro 6.2 se observa que el promedio del logaritmo de la carga viral es 2.99 lo que corresponde a 56,392 copias de virus por mL de sangre.

Para observar la distribución de la información sobre la carga viral, se realizó un histograma de frecuencias, graficando el número de casos existentes para cada valor del logaritmo de la carga viral.

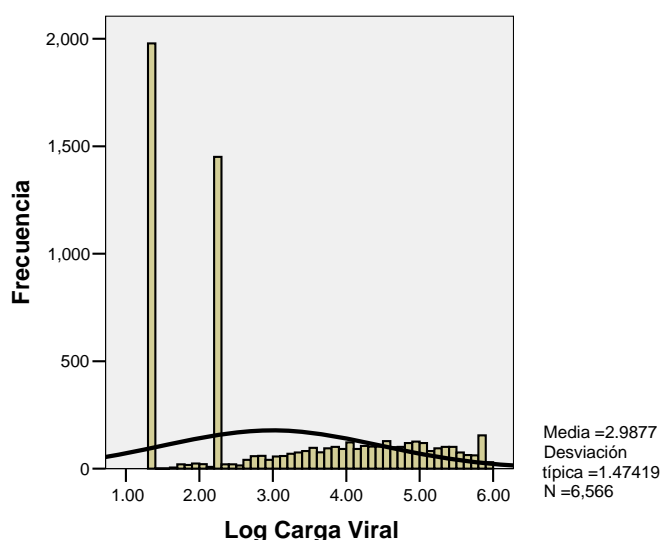


Figura. 6.2 Histograma de frecuencias para los datos de carga viral

En el histograma de frecuencias se observa claramente que la muestra –completa- se desvía considerablemente de una curva normal; se trata de una distribución asimétrica. En particular, se observan los tres picos sobresalientes en los extremos de la distribución que corresponden a los límites de detección de la prueba de carga viral, resaltando principalmente los dos picos inferiores. Los dos picos inferiores, corresponden el más extremo al límite de la prueba ultrasensible, y el subsiguiente a la prueba estándar. El pico superior que es de mucho menor tamaño, corresponde al límite superior de detección. El límite de detección para la prueba ultrasensible es de 50 copias por mililitro y el límite para la prueba estándar es de 400 copias por mililitro. El límite superior de detección de la prueba es de 750,000 copias por mililitro. Es de esperarse por lo tanto que en estos valores caiga un gran número de casos cuya carga viral rebasa los límites de detección.

### 6.3 Comparación inicial de la carga viral y distribuciones de los datos.

En primer lugar se realizó una comparación inicial para toda la población de la carga viral entre hombres y mujeres para determinar la presencia de diferencias significativas, sin tomar en cuenta el resto de las variables.

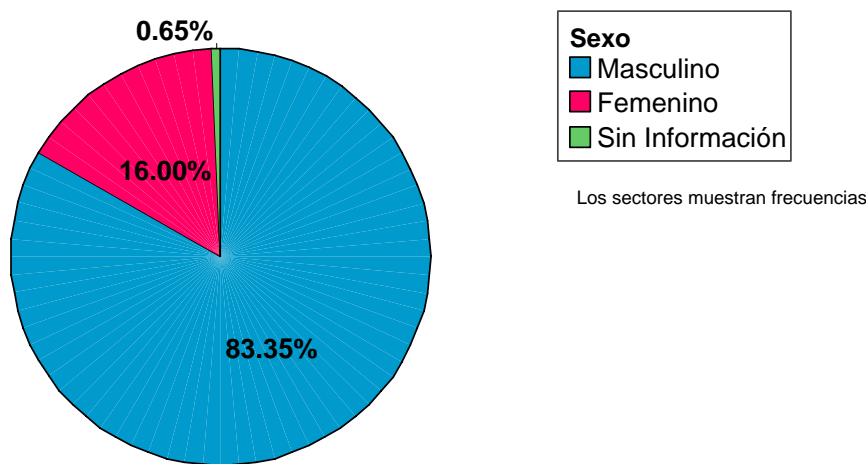


Figura 6.3 Porcentajes de acuerdo al sexo de los pacientes

Log Carga Viral	Sexo	Casos					
		Válidos		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
	Masculino	5502	99.8%	10	.2%	5512	100.0%
	Femenino	1057	99.9%	1	.1%	1058	100.0%
	Sin Información	7	16.3%	36	83.7%	43	100.0%

Cuadro 6.3 Resumen de los casos de acuerdo al sexo.

En el cuadro 6.3 y en la fig. 6.3 se observa que el 16% de los pacientes son de sexo femenino. Esta es una proporción representativa de toda la población ya que dicho porcentaje es muy similar al 16.9% reportado de pacientes mujeres infectadas por el VIH-1 en todo el país [4]. Hay siete casos en los que no se cuenta con información sobre el sexo del paciente, como ya se había comentado previamente.

Para conocer la distribución de los datos según sexo, se realizaron los histogramas de frecuencia de la carga viral por separado.

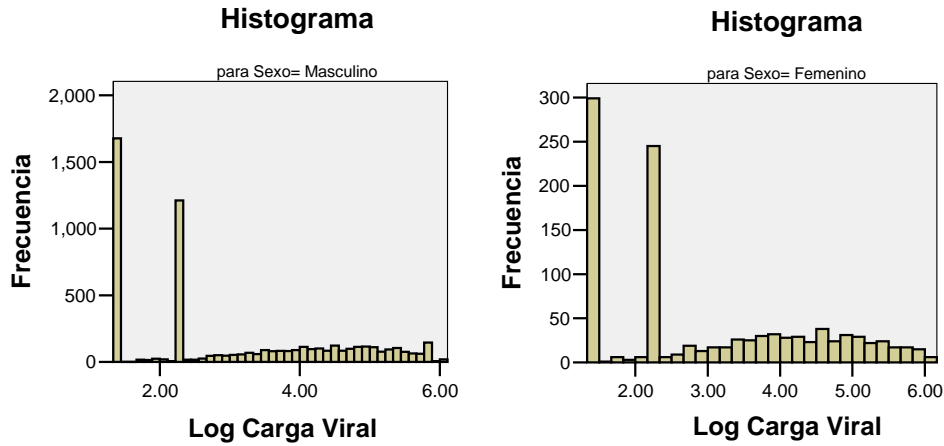


Figura 6.4 Comparación entre las distribuciones de carga viral para hombres y mujeres

En la fig. 6.4 se observa que ambas distribuciones de carga viral son aparentemente similares entre los sexos, presentando ambas distribuciones los picos inferiores correspondientes a los límites inferiores de detección. Claramente ambas distribuciones distan de ser distribuciones normales.

Para evaluar la normalidad de dichas distribuciones, aplicamos la prueba Kolmogorov-Smirnov (con una significancia < .05) y encontramos que las distribuciones de la carga viral tanto para hombres y mujeres son significativamente diferentes de una distribución normal (Cuadro 6.4). El número de grados de libertad (gl) en este caso indica el número de casos que conforman cada distribución. Esto es importante, ya que sugiere la elección de técnicas no-paramétricas para las pruebas de hipótesis.

Sexo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
	Estadístico	gl	Sig.
Log Masculino	.218	5502	.000
Femenino	.210	1057	.000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Cuadro 6.4 Pruebas de normalidad para las distribuciones de carga viral de pacientes hombres y mujeres

El siguiente diagrama de cajas (boxplot) sugiere que, cuando no se toma en cuenta ninguna otra variable y para el grueso de los pacientes, no es posible encontrar alguna diferencia en la carga viral de hombres y mujeres.

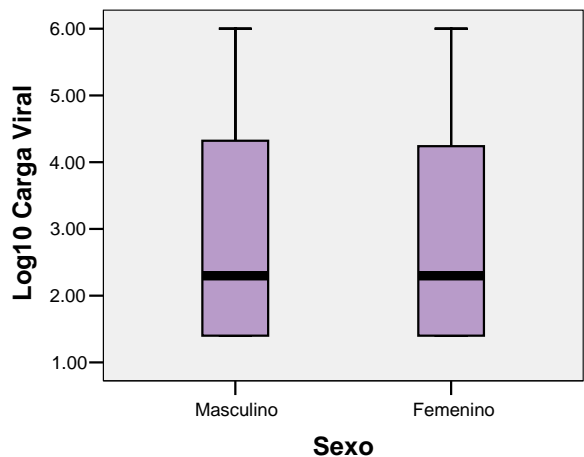


Fig. 6.5 Diagramas de caja para la carga viral de acuerdo al sexo



Los diagramas de caja tienen la virtud de poder presentar con claridad, aunque de manera diferente, una distribución que se aleja de una distribución normal. En los diagramas de caja presentados, la línea gruesa horizontal del interior de la caja corresponde a la mediana. La mediana nos indica que la mitad de los datos se encuentra por debajo y la otra mitad por arriba de ese valor.

El conjunto ordenado de los datos también puede dividirse en cuatro partes iguales denominadas cuartiles. La caja abarca el rango intercuartílico, que se define como la diferencia entre el tercer cuartil y el primero. El primer cuartil corresponde a la línea horizontal inferior de la caja y el tercero a la línea horizontal superior de la caja. Una línea, o bigote, se extiende desde cada extremo de la caja. El bigote bajo es una línea que va del primer cuartil al punto correspondiente al menor de los datos dentro de 1.5 rangos intercuartílicos a partir del primer cuartil. El bigote superior es una línea que va del tercer cuartil al punto correspondiente al mayor de los datos dentro de 1.5 rangos intercuartílicos a partir del tercer cuartil. Los datos que se encuentran alejados de la caja más allá de los bigotes se grafican como puntos individuales. Los valores atípicos están representados por círculos, y corresponden a aquellos puntos situados después de un bigote, pero a menos de 3 rangos intercuartílicos del borde de la caja. Un punto situado a más de 3 rangos intercuartílicos del borde de la caja se representa con un asterisco y se considera un punto atípico extremo.

El siguiente cuadro muestra los diferentes momentos estadísticos que describen los datos de la carga viral de acuerdo con el sexo de los pacientes.

Sexo		Estadístico	Error típ.		
Log	Masculino	Media	2.9893	.01999	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	2.9501	
			Límite superior	3.0285	
		Mediana	2.3000		
		Varianza	2.198		
	Desv. típ.	1.48249			
	Femenino	Amplitud intercuartil	2.92		
		Asimetría	.476	.033	
		Curtosis	-1.185	.066	
		Media	2.9828	.04408	
Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	2.8963		
	Límite superior	3.0693			
	Mediana	2.3000			
	Varianza	2.054			
	Desv. típ.	1.43326			
	Amplitud intercuartil	2.85			
	Asimetría	.478	.075		
	Curtosis	-1.113	.150		

Cuadro 6.5 Estadísticos descriptivos del logaritmo de la carga viral en pacientes masculinos y femeninos

En el cuadro 6.5 puede observarse que los diferentes momentos estadísticos de la carga viral no difieren considerablemente de acuerdo con el sexo del paciente. Cabe resaltar que la varianza es ligeramente mayor en los hombres que en las mujeres.

En una primera aproximación, como resultado del análisis preliminar de todos los datos, se observa que aparentemente no existen diferencias en la carga viral entre hombres y mujeres infectados con el VIH-1. Para determinar la significancia estadística de esta aseveración se

realizó una prueba hipótesis Se aplicó la prueba no-paramétrica Kruskal-Wallis, la cual realiza un análisis de varianza contrastando si los valores obtenidos en los diferentes grupos son similares. Esto lo realiza en primera instancia ordenando todos las observaciones de todos los grupos de menor a mayor. Si al ordenarse de esta manera se da la circunstancia de que muchas de las observaciones más pequeñas (o más grandes) pertenecen a un grupo, sería una indicación de que los grupos no presentan valores similares. En esta prueba la hipótesis nula considera que dos o más muestras independientes provienen de una misma población .A diferencia del análisis de varianza típico, esta prueba no asume normalidad por lo cual se considera no-paramétrica. Se observa que ambos grupos no muestran ninguna significancia estadística (Sig. > .05) por lo que puede concluirse que no existen diferencias probables en la carga viral de hombres y mujeres.

	LogCarga Viral
Chi-cuadrado	.072
Sig. asintót.	.788

**Cuadro 6.6 Resultados de la prueba de hipótesis Kruskal-Wallis, con el sexo como variable de agrupación**

Para explorar el comportamiento de la carga viral para los diferentes intervalos de CD4 y grupos de edad, en una primera aproximación se eliminaron a los niños, ya que sus cargas virales y conteos linfocitarios (por su tamaño y estado de desarrollo inmunológico) se comportan de tal forma que sus concentraciones no son comparables con las de los adultos, por lo que más adelante se analizarán por separado.

#### **6.4 La influencia del conteo linfocitario.**

Es importante determinar la influencia que tiene la concentración de linfocitos CD4+ en la sangre de los pacientes en las diferencias que pudieran existir en la carga viral entre los pacientes hombres y mujeres, ya que dicho nivel es un indicador del estado inmunológico del paciente. Convenientemente y por las características de operación del laboratorio de infectología, la mayor parte de las mediciones de carga viral y concentración de linfocitos se realizaron de manera simultánea para la misma muestra sanguínea de cada uno de los pacientes. En su defecto la metodología empleada en la creación de la base de datos considera una diferencia nunca mayor a siete días entre ambas mediciones para un mismo paciente.

Se crearon los intervalos representativos de la concentración de linfocitos. La delimitación de los intervalos está relacionada con las referencias clínicas empleadas en el seguimiento de los pacientes y a su vez han sido empleados en estudios previos comparativos sobre diferencias en la carga viral[15,20]. Los pacientes con más de 500 células/ $\mu$ L en general representan a pacientes asintomáticos, con una buena respuesta inmunológica mientras que los pacientes con menos de 50 células/ $\mu$ L en su mayoría representan pacientes sintomáticos con presencia de más de una infección oportunista.

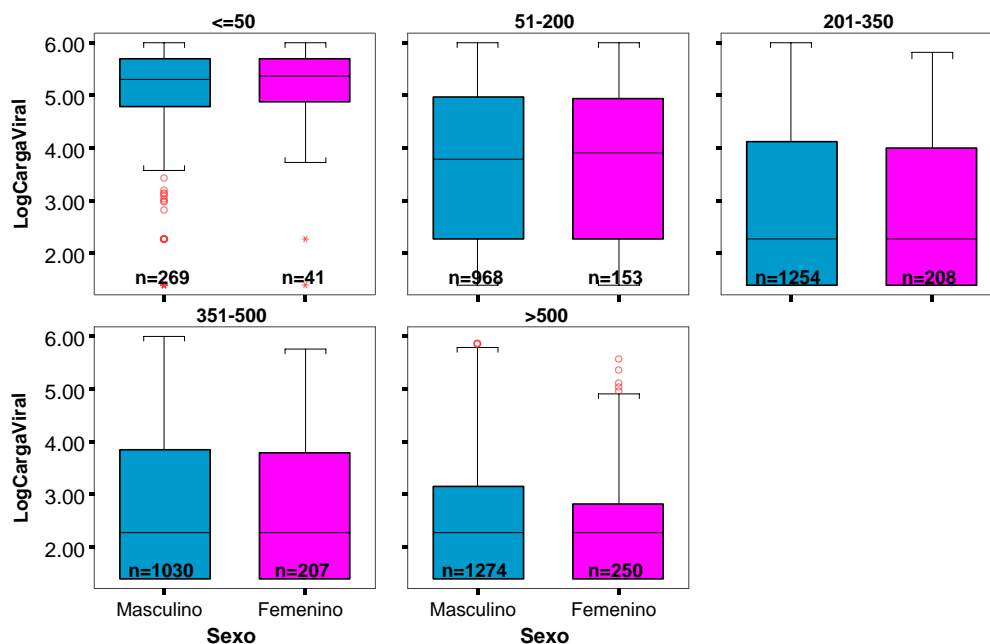


Figura 6.6 Comparación de la carga viral entre sexos de acuerdo con el conteo linfocitario.

En la fig. 6.6 pueden verse los diagramas de caja para la carga viral de pacientes hombres y mujeres en los diferentes intervalos de conteo linfocitario. A simple vista puede observarse como no parecen existir diferencias significativas entre pacientes femeninos y masculinos para ninguno de los intervalos. También es clara la presencia de valores extremos, los cuales tras ser detectados, fueron eliminados de la base de datos para el análisis posterior, por tratarse de casos excepcionales, donde por ejemplo, pese a que la carga viral es muy baja el conteo linfocitario es también bajo y el estado inmunológico del paciente poco prometedor. Cualitativamente resalta el hecho de que las medianas de las mujeres son ligeramente mayores que las de los hombres para el caso de conteos linfocitarios bajos ( $< 200$  células/microlitro), hecho que se ha reportado con anterioridad en trabajos previos, sin llegar a tener significancia estadística [15].

LogCargaViral		N	Mediana	Media	Desv. típ.
<=50	Masculino	268	5.2900	4.9547	1.06789
	Femenino	39	5.4400	5.2536	.59040
	Total	307	5.3100	4.9926	1.02385
51-200	Masculino	968	3.7800	3.5336	1.56751
	Femenino	153	3.9100	3.6637	1.44973
	Total	1122	3.8100	3.5494	1.55262
201-350	Masculino	1254	2.3000	2.8896	1.39171
	Femenino	208	2.3000	2.8879	1.31761
	Total	1464	2.3000	2.8892	1.38091
351-500	Masculino	1030	2.3000	2.6991	1.33171
	Femenino	207	2.3000	2.6824	1.26834
	Total	1237	2.3000	2.6963	1.32083
>500	Masculino	1274	2.3000	2.4008	1.18081
	Femenino	250	2.3000	2.3130	1.09897
	Total	1524	2.3000	2.3864	1.16788

Cuadro 6.7 Comparación de las medias medianas y desviación estándar para la carga viral de acuerdo al género y al conteo linfocitario.

El cuadro 6.7 indica que la tendencia central para hombres y mujeres prácticamente no varía sin importar el estado inmunológico del paciente. Para determinar si estas pequeñas diferencias pudieran ser significativas estadísticamente se aplicó la prueba no-paramétrica Kruskal-Wallis. En el cuadro 6.8 se observa que en cada grupo no se muestra ninguna significancia estadística (Sig.  $> .05$ ) por lo que puede concluirse que no existen diferencias

probables en la carga viral de hombres y mujeres, sin importar la concentración de linfocitos en plasma. El número de grados de libertad de la prueba (gl) corresponde a uno, ya que se está solamente comparando diferencias en cuanto al sexo de los pacientes. Resalta a su vez el hecho de que los valores de la mediana (Cuadro 6.7) son constantes tanto para hombres como para mujeres como para los tres mayores intervalos de conteo CD4+. Esto se debe a que la mediana se calcula ordenando las observaciones de la menor a la mayor y seleccionando el valor medio, por lo tanto, debido a la enorme variación existente en nuestros pacientes, en todos estos intervalos se tienen iguales límites superior e inferior (que corresponden a los límites de detección de la prueba) y por lo tanto misma mediana.

CD4 (Categorizada)		LogCarga Viral
<=50	Chi-cuadrado	1.135
	gl	1
	Sig. asintót.	.287
51-200	Chi-cuadrado	.889
	gl	1
	Sig. asintót.	.346
201-350	Chi-cuadrado	.094
	gl	1
	Sig. asintót.	.759
351-500	Chi-cuadrado	.027
	gl	1
	Sig. asintót.	.869
>500	Chi-cuadrado	.784
	gl	1
	Sig. asintót.	.376

**Cuadro 6.8 Resultados de la prueba de hipótesis Kruskal-Wallis para cada intervalo de conteo linfocitario, con el sexo como variable de agrupación**

Pese a que no se encuentra ninguna diferencia estadística entre hombres y mujeres para los diferentes grupos de conteo linfocitario, esto puede corroborarse con otras pruebas. Aunque la prueba de Kruskal-Wallis es más robusta para distribuciones asimétricas como las descritas, otra prueba alternativa es la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, la cual prueba la hipótesis nula de que dos muestras independientes provienen de la misma población, sin asumir la normalidad de las variables.

En el cuadro 6.9 la prueba U de Mann y Whitney muestra de nueva cuenta, que no se encontraron diferencias significativas en la carga viral de hombres y mujeres para los distintos grupos de conteo linfocitario. (sig > .05). En lo consiguiente se empleará únicamente la prueba Kruskal-Wallis.

CD4 (Categorizada)		LogCarga Viral
<=50	U de Mann-Whitney	4674.500
	W de Wilcoxon	40720.500
	Z	-1.066
	Sig. asintót. (bilateral)	.287
51-200	U de Mann-Whitney	70570.500
	W de Wilcoxon	539566.500
	Z	-.943
	Sig. asintót. (bilateral)	.346
201-350	U de Mann-Whitney	128720.500
	W de Wilcoxon	915605.500
	Z	-.307
	Sig. asintót. (bilateral)	.759
351-500	U de Mann-Whitney	105854.500
	W de Wilcoxon	636819.500
	Z	-.165
	Sig. asintót. (bilateral)	.869
>500	U de Mann-Whitney	153911.000
	W de Wilcoxon	185286.000
	Z	-.885
	Sig. asintót. (bilateral)	.376

**Cuadro 6.9 Resultados de la prueba U de Mann –Whitney para cada intervalo de conteo linfocitario con el sexo como variable de agrupación**

## 6.5 La influencia de la Edad.

De existir diferencias en la carga viral asociadas al sexo de los pacientes, como ya se comentó (Sección 4.4), una de las probables explicaciones podrían ser las diferencias existentes entre los niveles hormonales de hombres y mujeres. Sin embargo dichas diferencias varían según la edad, siendo mayor la diferencia durante la etapa reproductiva. Al paso del tiempo el individuo cambia y sus niveles de algunas hormonas disminuyen gradualmente. Principalmente, se presentan cambios para los hombres en la testosterona y para las mujeres en los estrógenos. Estas últimas hormonas sexuales son responsables de un buen número de las diferencias físicas entre ambos sexos. Si dichas hormonas estuvieran relacionadas con diferencias en la carga viral de hombres y mujeres infectados con el VIH-1, la diferencia de carga viral debiera presentar claras variaciones para los distintos grupos de edad.

El cambio más drástico y rápido en los niveles de estrógenos de la mujer se presenta en promedio alrededor de los 50 años con la menopausia. Para los hombres la disminución es más gradual, comienza en promedio alrededor de los 40 años, y se ha determinado que en hombres de 60 años en promedio sus niveles de testosterona son tres veces menores que cuando tenían 35 años de edad[22]. Tomando en cuenta dichas variaciones los grupos de edad se constituyeron empleando los siguientes intervalos: Adolescentes (11 a 18 años), Jóvenes (19 a 35 años), Adultos (36 a 55 años) y Mayores (con más de 55 años de edad).

En la Fig. 6.7 se muestran los diagramas de caja para las diferencias de carga viral entre hombres y mujeres para los distintos grupos de edad. Con ayuda de estos diagramas se eliminó el valor extremo u *outlier* observado (representado por el asterisco). Se distinguen diferencias observables entre las medianas de los diferentes grupos, las mujeres parecen tener valores más altos de carga viral para los jóvenes y adolescentes, como también puede observarse en el cuadro 6.10. Sin embargo se realizaron las pruebas de hipótesis correspondientes para corroborar la significancia estadística de dichas diferencias.

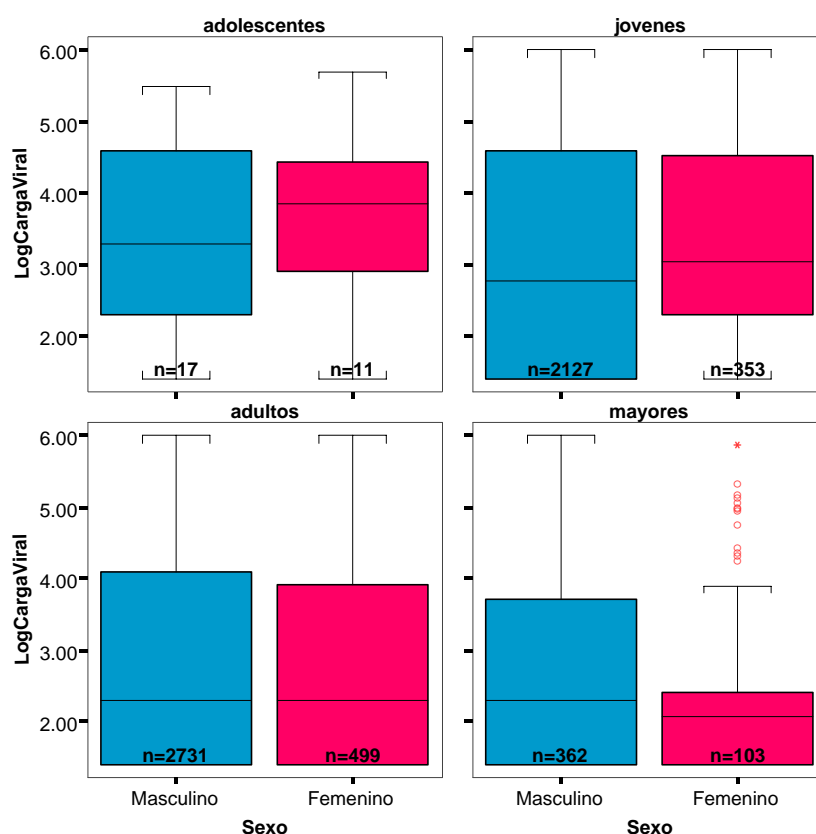


Figura 6.7 Comparación de la carga viral entre sexos de acuerdo con el intervalo de edad del paciente

LogCargaViral

Grupos de Edad	Sexo	N	Mediana	Media	Desv. típ.
adolescentes	Masculino	17	3.2800	3.4718	1.38638
	Femenino	11	3.8400	3.6545	1.22578
	Total	28	3.8000	3.5436	1.30528
jóvenes	Masculino	2127	2.7600	3.1910	1.50127
	Femenino	353	3.0400	3.2232	1.42726
	Missing	4	2.5350	2.6300	1.42873
	Total	2484	2.8000	3.1947	1.49052
adultos	Masculino	2730	2.3000	2.8579	1.45356
	Femenino	497	2.3000	2.8418	1.40877
	Total	3227	2.3000	2.8554	1.44655
mayores	Masculino	362	2.3000	2.6253	1.36737
	Femenino	103	2.0600	2.3273	1.23279
	Total	465	2.3000	2.5593	1.34316

**Cuadro 6.10** Medidas de tendencia central para la carga viral de hombres y mujeres en los diferentes intervalos de edad

Edad Grupos de Edad		LogCarga Viral
adolescentes	Chi-cuadrado	.001
	gl	1
	Sig. asintót.	.981
jóvenes	Chi-cuadrado	.347
	gl	1
	Sig. asintót.	.556
adultos	Chi-cuadrado	.002
	gl	1
	Sig. asintót.	.963
mayores	Chi-cuadrado	4.056
	gl	1
	Sig. asintót.	.044

**Cuadro 6.11** Resultados de la prueba de hipótesis Kruskal-Wallis para cada intervalo de edad, con el sexo como variable de agrupación

Los resultados de la prueba Kruskal-Wallis (Cuadro 6.11) indican que existe una diferencia significativa entre la carga viral de hombres y mujeres de más 55 años de edad. Aunque, por otro lado, también se observa en la Fig.6.7 la gran cantidad de valores atípicos que incluye la población femenina en este intervalo de edad.

## 6.6 Los casos pediátricos

Otro grupo que resulta interesante estudiar es el caso de los pacientes pediátricos. Desafortunadamente para efectos de este estudio, la base de datos construida no cuenta con suficientes casos de niños (menores de 11 años) para hacer un análisis detallado por intervalos. En primera instancia las concentraciones de la carga viral en el plasma de los niños no son comparables con las de los pacientes adultos [20], por lo que no fueron incluidos en el análisis previo, pero sí son comparables entre sí mismos. En la fig. 6.9 se muestra la diferencia entre la carga viral de niños y niñas infectados por el VIH-1.

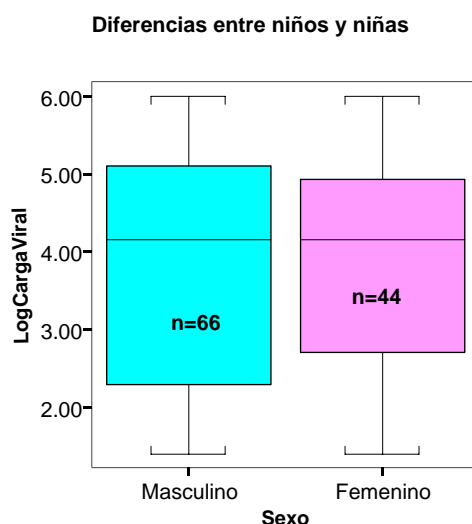


Figura 6.9 Comparación de la carga viral entre sexos para pacientes pediátricos

A simple vista en la fig. 6.9 puede observarse que no se distinguen diferencias entre la carga viral de niños y niñas. Esto se confirma realizando las pruebas de hipótesis correspondientes ( $\text{sig} > .05$ ) donde no se encuentran diferencias significativas entre la carga viral de niños y niñas (Cuadro 6.12). De este análisis puede decirse que no se encontraron diferencias significativas en la carga viral de niños y niñas, al igual que en el caso del resto de las edades, a excepción de los pacientes mayores donde parece existir mayor carga viral en los pacientes hombres que en las mujeres. Esto podría indicar un efecto degenerativo asociado a la edad más que a los niveles hormonales, sin embargo cabe mencionar que hasta ahora, el análisis realizado considera de manera conjunta pacientes sin tratamiento y bajo tratamiento antirretroviral, por lo que el siguiente paso fue indagar el efecto del tratamiento en las diferencias de carga viral asociadas entre hombres y mujeres, que hasta ahora no se encontraron para la mayoría de los subgrupos analizados.

	LogCarga Viral
Chi-cuadrado	.096
gl	1
Sig. asintót.	.757

Cuadro 6.12. Resultados de la prueba de hipótesis Kruskal-Wallis para pacientes pediátricos, con el sexo como variable de agrupación

## **6.7 El efecto del Tratamiento**

Un aspecto determinante a considerar en el análisis de los datos, es conocer el efecto que tiene el tratamiento antirretroviral altamente activo (HAART) que están recibiendo gran parte de los pacientes, en las diferencias de carga viral entre hombres y mujeres. Por esto es de gran relevancia, pese a que no se encontraron diferencias en el grueso de los datos, determinar si se observa diferencia en la carga viral de hombres y mujeres antes de recibir cualquier tratamiento; y a su vez determinar la existencia y el comportamiento de dicha diferencia, cuando se encuentran bajo un esquema de tratamiento.

La base de datos se amplió, en una segunda fase de acuerdo con el protocolo, con la información disponible sobre el tratamiento, incluida en las solicitudes de los exámenes de laboratorio. En la base se incorporó la información de pacientes que reportan estar bajo tratamiento antirretroviral, aproximadamente al menos durante los tres meses previos a la medición de la carga viral en el laboratorio. También debe considerarse que de acuerdo con la información que se empleó para la construcción de la base de datos, un paciente que se consideró sin tratamiento, puede no haber recibido tratamiento alguno con anterioridad o bien haber suspendido el tratamiento por un periodo de al menos seis meses antes de la medición de la carga viral en el laboratorio. Los pacientes considerados bajo tratamiento en nuestra base de datos, se encontraban recibiendo la combinación de al menos dos de los siguientes fármacos comerciales:

Inhibidores de Proteasa :

- Indinavir
- Saquinavir
- Ritonavir
- Nelfinavir

Inhibidores de Retrotranscriptasa no-nucleósidos:

- Efavirenz
- Nevirapina

Inhibidores de Retrotranscriptasa análogos de nucleósido:

- Azatanavir
- Lopinavir
- Lamivudina
- Estavudina
- Didanosina
- Zalcitabina
- Abacabir
- Zidovudina

O bien las combinaciones o cócteles comerciales:

- Convivir = Zidovudina + Lamivudina
- Kaletra = Lopinavir + Ritonavir

La base de datos está compuesta principalmente por pacientes bajo tratamiento, como puede verse en la gráfica de barras de la Fig. 6.10 sin embargo, el número de pacientes de los cuales se desconoce su régimen de tratamiento, es mayor que el número de pacientes que se sabe no están recibiendo tratamiento antirretroviral al momento de la medición.



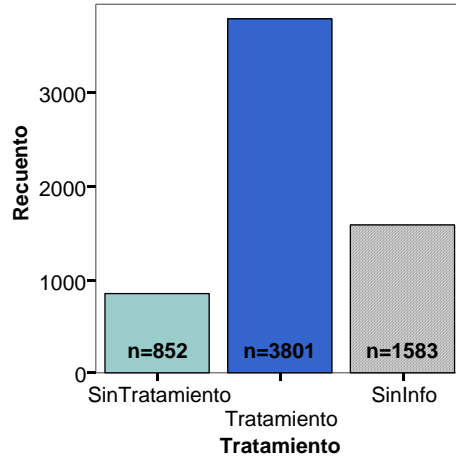


Fig. 6.13 Composición relativa de los pacientes la base de datos en términos del tratamiento

Tratamiento		Casos	Promedio	Std. Deviation
Tratamiento	LOG carga viral	2071	2.955180	1.5278317
	Sexo	2074	.16	.365
sin información	LOG carga viral	1165	3.120621	1.4236960
	Sexo	1169	.19	.391
Sin TARV	LOG carga viral	586	4.608925	1.0425840
	Sexo	584	.15	.360
TARV	LOG carga viral	2780	2.616639	1.2807200
	Sexo	2780	.15	.360

Cuadro 6.13 Estadísticos Descriptivos de los pacientes con y sin tratamiento antirretroviral

Una vez separados los pacientes en dos grupos, tratados y no tratados, se separaron los hombres de las mujeres para buscar diferencias en sus niveles de carga viral.

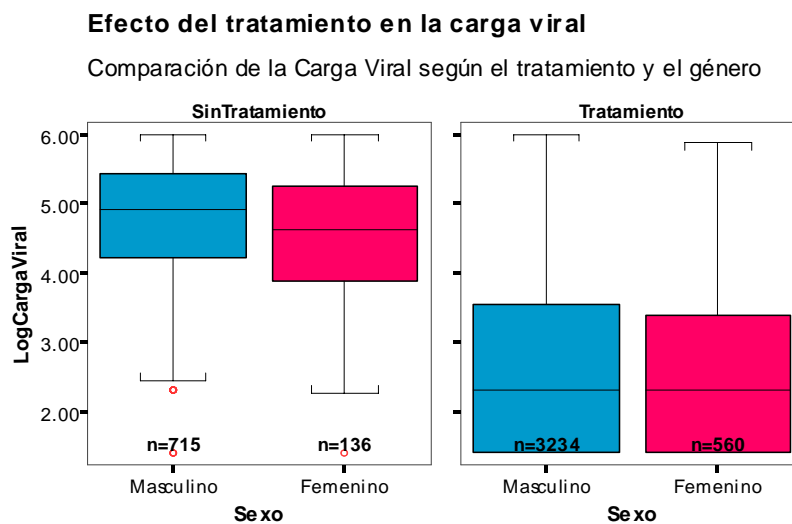


Fig. 6.14 Comparación de la carga viral entre sexos de acuerdo con el intervalo de edad del paciente

En la fig. 6.14, como es de esperarse si el tratamiento es exitoso, se observa que, comparativamente con los pacientes sin tratamiento, la carga viral tiende a ser más baja en los pacientes bajo medicación antirretroviral. Se observa como en los pacientes tratados, los cuales

representan la mayoría de la población analizada, no se distingue una diferencia en la tendencia de la carga viral, entre ambos sexos, sin embargo en los pacientes sin tratamiento antirretroviral se observa una clara diferencia entre la carga viral de ambos grupos. Aunque esta diferencia en escala logarítmica no es claramente perceptible ( $\sim 0.3$ ), en cuentas totales de RNA viral, la proporción entre la media de la carga viral de los hombres y la media de las mujeres es 1.3 (30% mayor), o bien una proporción en la mediana de 1.92 (92% mayor en hombres), casi el doble en hombres que en mujeres.

Sexo		LogCarga Viral	Copias
Masculino	Media	4.7022	196230.5
	N	715	715
	Desv. típ.	.98793	250139.3
	Varianza	.976	6E+010
	Mediana	4.9100	81100.00
Femenino	Media	4.4680	151064.2
	N	136	136
	Desv. típ.	1.05017	232267.7
	Varianza	1.103	5E+010
	Mediana	4.6250	42200.00
Total	Media	4.6647	189012.3
	N	851	851
	Desv. típ.	1.00119	247792.3
	Varianza	1.002	6E+010
	Mediana	4.8700	73900.00

Cuadro 6.14 Estadísticos Descriptivos de los pacientes con y sin tratamiento antirretroviral

Para determinar si las diferencias observadas, eran estadísticamente significativas se realizaron las pruebas de hipótesis no paramétricas correspondientes.

	LogCarga Viral
Chi-cuadrado	7.028
gl	1
Sig. asintót.	.008

a. Prueba de Kruskal-Wallis

Cuadro 6.15 Resultados de la prueba Kruskal-Wallis respectivamente, para pacientes *sin tratamiento* antirretroviral con el sexo como variable de agrupación

	LogCarga Viral
Chi-cuadrado	.516
gl	1
Sig. asintót.	.472

a. Prueba de Kruskal-Wallis

Cuadro 6.16. Resultados de la prueba Kruskal-Wallis respectivamente, para pacientes *bajo tratamiento* antirretroviral con el sexo como variable de agrupación

Como puede observarse en los cuadros 6.16 y 6.17, las diferencias son significativas (Sig.  $> .05$ ) en el caso de los pacientes sin tratamiento y por el contrario no lo son (Sig.  $> .05$ ) para pacientes bajo tratamiento antirretroviral, tal y como se observaba en los diagramas de caja.

## 6.8 Tablas de Contingencia y el Tratamiento

Una tabla de contingencia muestra el número de casos en cada una de las categorías, definidas por una o más variables de agrupación. Son de gran utilidad para analizar variables categóricas como es el caso del sexo o los grupos de edad. La prueba de Chi-cuadrada, además de ser no paramétrica, permite probar la hipótesis de que las variables en los renglones y en las columnas de una tabla de contingencia son independientes entre sí. Un valor bajo en la significancia (Sig. <.05) indica que existe cierta relación entre las dos variables cruzadas. En nuestro caso buscamos indicios de una relación entre el sexo de los pacientes y su respectiva carga viral, por lo que el construir tablas de contingencia representó una alternativa más de explorar nuestros datos. En un inicio el sexo es una variable categórica dicotómica, sin embargo, la carga viral es, para nuestro caso, una variable continua.

Para poder construir una tabla de contingencia fue necesario dividir la variable *carga viral* en categorías útiles que nos describieran el comportamiento de interés de dicha variable en los pacientes estudiados. Se optó por emplear el promedio de los datos como punto de corte, ya que es precisamente el promedio o media, una medida de la tendencia central que constituye el punto más cercano al resto de los datos. Por lo tanto se separó la variable en dos categorías: casos cuyo valor de la carga viral está por arriba del promedio de la población y casos cuyo valor de la carga viral está por debajo del promedio de la carga viral de la población. Así podemos estimar si existe una relación entre el hecho de que un paciente sea hombre o mujer y el hecho de que su carga viral esté por arriba o por abajo del promedio de ambos. Como se ha visto que el comportamiento de los pacientes que están bajo tratamiento antirretroviral difiere considerablemente del de aquellos que no reciben tratamiento alguno, las tablas de contingencia se realizaron para cada uno de estos grupos por separado, usando respectivamente, como punto de corte el promedio de la población de cada uno de los grupos de tratamiento.

		Sexo		Total
		Masculino	Femenino	
LogCargaViral	<promedio	285	71	356
(Categorizada)	>promedio	430	65	495
Total		715	136	851

**Cuadro 6.17** Tabla de contingencia para pacientes *sin tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral esta por arriba y por debajo del promedio de ambos.

		Sexo		Total
		Masculino	Femenino	
LogCargaViral	<promedio	2243	399	2642
(Categorizada)	>promedio	991	161	1152
Total		3234	560	3794

**Cuadro 6.18** Tabla de contingencia para pacientes *bajo tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral esta por arriba y por debajo del promedio de ambos.

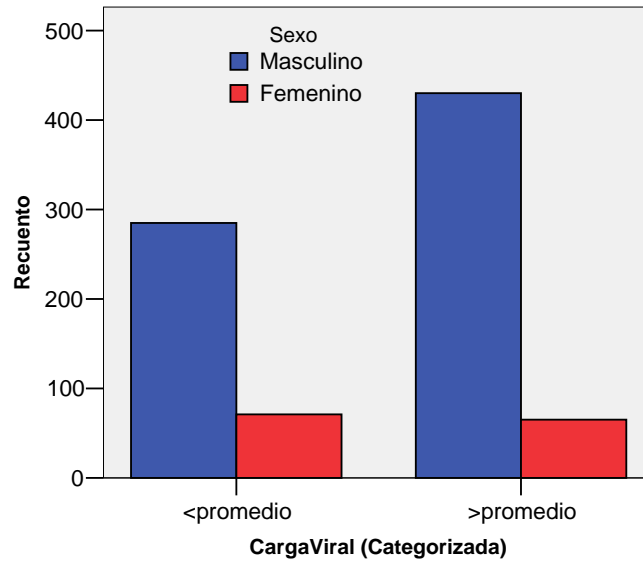


Fig. 6.15 Grafico de Barras para pacientes sin tratamiento con el número de casos en cada una de las variables categóricas.

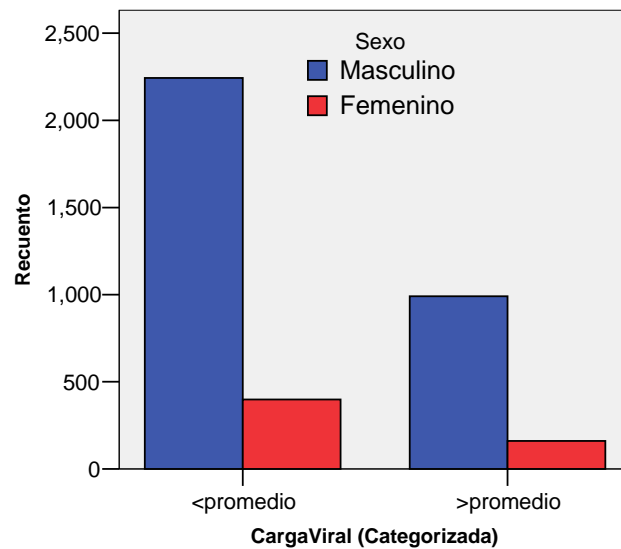


Fig. 6.16. Grafico de Barras para pacientes bajo tratamiento antirretroviral con el número de casos en cada una de las variables categóricas.

Las tablas de contingencia obtenidas para cada grupo de pacientes, con y sin tratamiento viral (Cuadros 6.17 y 6.18) muestran el número de casos en cada una de las categorías cruzadas que relacionan el sexo y el nivel de la carga viral. En los gráficos correspondientes (Fig. 6.15 y 6.16) se observa la información de las tablas de contingencia a manera de barras. Puede distinguirse que para el caso de los pacientes sin tratamiento, el número de mujeres que están por arriba y por abajo del promedio de la carga viral no varía considerablemente, en cambio es mayor la proporción de hombres cuya carga viral está por arriba del promedio de la población. Por el contrario, para los pacientes bajo tratamiento antirretroviral se observa, que tanto para el caso de los pacientes hombres como para las mujeres, la mayor parte de la población posee valores para la carga viral que encuentran por debajo del promedio. Estos resultados son consistentes con los anteriormente descritos y revelan una clara diferencia entre hombres y mujeres para el caso de los pacientes sin tratamiento. Para corroborar la probabilidad de dicha diferencia se realizó la prueba de Chi-cuadrada para determinar la independencia o relación entre los reglones y columnas de las tablas de contingencia.

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7.157 <sup>b</sup>	1	.007		
Corrección por continuidad	6.659	1	.010		
Razón de verosimilitud	7.069	1	.008		
Estadístico exacto de Fisher				.008	.005
Asociación lineal por lineal	7.149	1	.008		
N de casos válidos	851				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 56.89.

**Cuadro 6.19. Pruebas de Chi-cuadrada para la tabla de contingencia de pacientes *sin tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral está por arriba y por debajo del promedio de ambos.**

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	.809 <sup>b</sup>	1	.368		
Corrección por continuidad	.722	1	.395		
Razón de verosimilitud	.816	1	.366		
Estadístico exacto de Fisher				.398	.198
Asociación lineal por lineal	.809	1	.368		
N de casos válidos	3794				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 170.04.

**Cuadro 6.20 Pruebas de Chi-cuadrada para la tabla de contingencia de pacientes *bajo tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral está por arriba y por debajo del promedio de ambos.**

La prueba de Chi cuadrada de Pearson, es la prueba de significancia más común que emplea la distribución de la Chi-cuadrada, para encontrar la independencia de renglones y columnas en una tabla de contingencia. La corrección por continuidad o corrección de Yates, es un ajuste conservador y arbitrario de la Chi-cuadrada que se aplica cuando las frecuencias en una o más celdas son menores que cinco; solo se aplica para tablas de 2x2. La razón de verosimilitud es un procedimiento alternativo para probar la hipótesis de no asociación entre renglones y columnas para datos de tipo nominal. Aunque se calcula diferente se interpreta de la misma forma que los resultados de la chi-cuadrada de Pearson. La asociación lineal por lineal también conocida como prueba de Mantel-Haenszel, a diferencia de la razón de verosimilitud, es una medida ordinal de la significancia. Se prefiere emplearla cuando se prueba la significancia de la relación lineal entre dos variables ordinales por ser más poderosa, por lo que en nuestro caso no es tan confiable como la razón de verosimilitud. Por último, el estadístico exacto de Fisher se emplea como alternativa a la Chi-cuadrada de Pearson cuando las frecuencias en algunas de las celdas de la tabla de contingencia son menores que cinco casos.

Aunque en este caso, por tratarse de una variable nominal, y no tener frecuencias menores que cinco, las técnicas de prueba de hipótesis más apropiadas son la Chi-cuadrada de Pearson y la razón de verosimilitud, se observa que todas las pruebas nos llevan a conclusiones similares. En general las pruebas de Chi-cuadrada nos muestran para el caso de los pacientes sin tratamiento que podemos afirmar dentro de un intervalo de confianza aceptable (sig. < .05) que existe una relación entre el sexo del paciente y si su carga viral está por arriba o abajo del

promedio. Sin embargo la prueba no resultó estadísticamente significativa para los pacientes bajo tratamiento, tal y como se obtuvo con la prueba Kruskal-Wallis.

Una alternativa más para la prueba de hipótesis son las medidas nominales de simetría, que indican tanto la fuerza como la significancia de la relación entre las variables renglón y columna de tipo nominal, de una tabla de contingencia. El rango del valor de cada estadística está siempre entre 0 y 1. Valores bajos en la significancia de todas las pruebas simétricas ( $\text{sig.} < .05$ ) indican relación entre las dos variables. Sin embargo los valores bajos en cada una de las estadísticas indicarían que la relación entre las dos variables es débil. La prueba Phi es únicamente apropiada para tablas de 2x2 como en este caso, y tiene la ventaja de eliminar el tamaño de la muestra dividiendo el valor de Chi-cuadrada entre el número de casos y sacando la raíz cuadrada. La V de Cramer es la medida nominal de asociación más popular, al igual que la Phi no depende del tamaño de la tabla de contingencia y se interpreta como el porcentaje de máxima variación posible de ambas variables. El coeficiente de contingencia es un ajuste de la Phi, que adapta la prueba a tablas con más de 2x2 renglones por columnas, por lo que en nuestro caso no es la medida más apropiada.

**Medidas simétricas**

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	-.092	.007
	V de Cramer	.092	.007
	Coeficiente de contingencia	.091	.007
N de casos válidos		851	

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

**Cuadro 6.21. Medidas simétricas de asociación para la tabla de contingencia de pacientes *sin tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral esta por arriba y por debajo del promedio de ambos.**

**Medidas simétricas**

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	-.015	.368
	V de Cramer	.015	.368
	Coeficiente de contingencia	.015	.368
N de casos válidos		3794	

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

**Cuadro 6.22. Medidas simétricas de asociación para la tabla de contingencia de pacientes *bajo tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral esta por arriba y por debajo del promedio de ambos.**

En los cuadros 6.21 y 6.22 las medidas simétricas de asociación, muestran una asociación significativa ( $\text{Sig.} < .05$ ) únicamente para el caso de los pacientes bajo tratamiento, sin embargo se observa que el valor de asociación es bajo, es decir, un valor de 0.09 representa que sólo en promedio el 9% de la variación de una variable es simétrica con la otra, es decir, la asociación entre el sexo y el nivel de carga viral, es clara, pero débil.

Una vez que se determinó que el tratamiento parece debilitar las diferencias existentes entre hombres y mujeres, se procedió a analizar ambos grupos de pacientes, tratados y no tratados, por separado e involucrando el resto de las variables.

## 6.9 El tratamiento y la Edad

Se realizó comparativamente el análisis de las diferencias en la carga viral para cada uno de los grupos de edad, para determinar si indirectamente pudieran encontrarse variaciones asociadas a los cambios en los niveles hormonales al interior de cada grupo de tratamiento. En primera instancia, como muestra la siguiente figura 6.17, al separar los datos en pacientes tratados y no tratados, no se tienen suficientes pacientes adolescentes (11-18 años) en cada uno de los grupos de tratamiento, por lo que fueron excluidos del análisis.

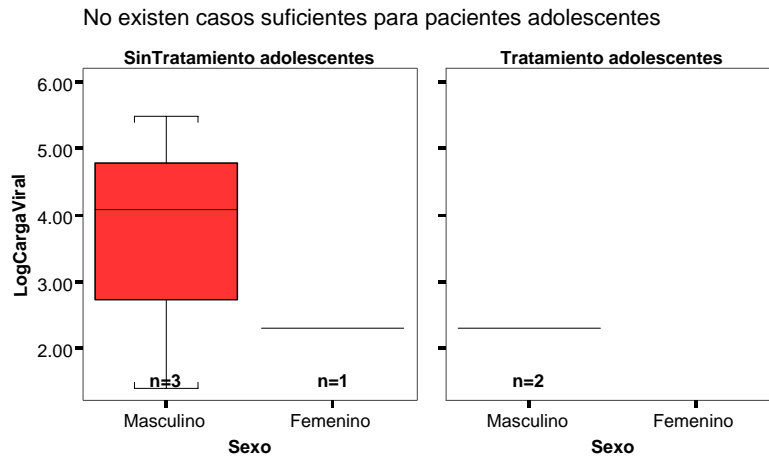


Fig. 6.17 Comparación del efecto del tratamiento en la variación de la carga viral en pacientes adolescentes.

También, si se analizan los casos pediátricos separándolos de acuerdo con la variable de tratamiento, ocurre lo mismo que para el caso de los adolescentes, pues se tienen frecuencias menores que cinco para el caso de las niñas sin tratamiento, lo cual limita mucho el análisis entre ambos grupos. Sin embargo, llama la atención que para el grupo de pacientes tratados, la carga viral de las niñas parece tender a estar muy por arriba de la de los niños, lo cual más que sugerir una diferencia asociada al género, quizá implique una falla en el tratamiento de algunas de las niñas en el grupo de pacientes tratados. Dicho esto, por lo anteriormente mencionado y por el hecho de que la carga viral en niños no es comparable con el resto de los grupos de edad [20], estos casos fueron a su vez excluidos del análisis subsecuente.

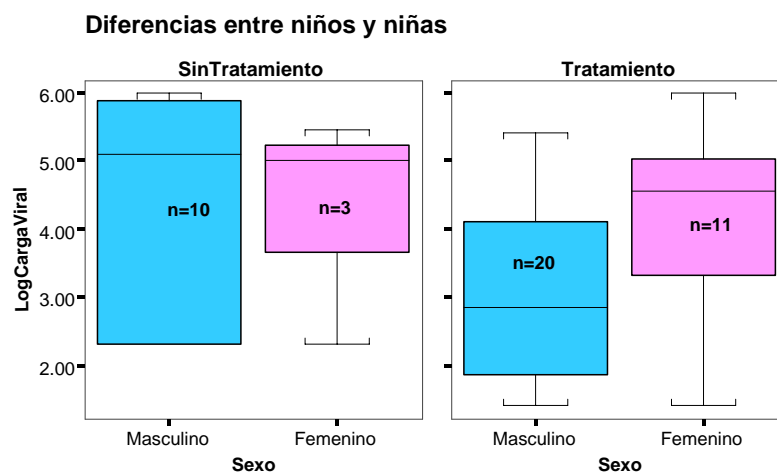


Fig. 6.18 Comparación del efecto del tratamiento en la variación de la carga viral en pacientes pediátricos.

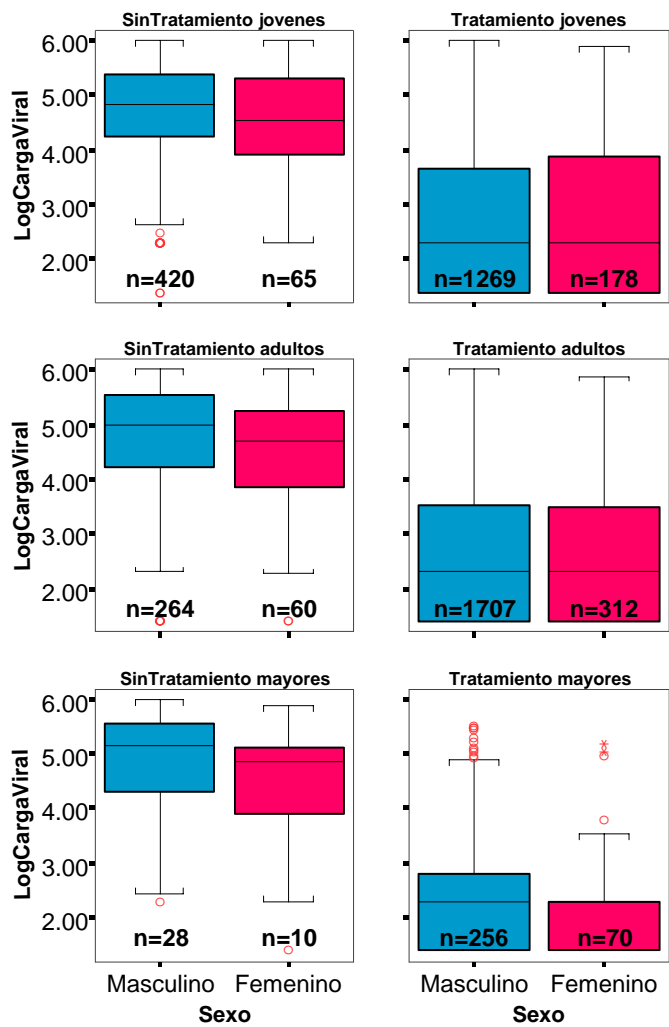


Fig. 6.19. Comparación del efecto del tratamiento en la variación de la carga viral entre sexos, según la edad.

En la fig. 6.19 se observan los diagramas de caja para las diferencias entre la carga viral de hombres y mujeres, al interior de los diferentes intervalos de edad previamente definidos: Jóvenes (19 a 35 años), Adultos (36 a 55 años) y Mayores (con más de 55 años de edad). Para el caso de los pacientes bajo tratamiento antirretroviral (columna derecha), de manera consistente, no se distingue con claridad ninguna diferencia asociada al género, con excepción de los pacientes mayores. Sin embargo para el caso de los pacientes sin tratamiento, se observó consistentemente una tendencia en la carga viral de los hombres encontrándose por encima de la tendencia correspondiente a las mujeres. Esto se encontró, aún para el caso de pacientes mayores de 55 años de edad, donde podría esperarse una variación en dicha diferencia asociada a los cambios en los niveles hormonales.



Tratamiento	Edad (Categorizada)	Sexo		LogCarga Viral	Copias
SinTratamiento	jóvenes	Masculino	Media	4.6951	177773.1
			N	420	420
			Desv. típ.	.90369	237891.3
		Femenino	Media	4.5178	155508.9
			N	65	65
			Desv. típ.	.92815	244452.2
	adultos	Masculino	Media	4.7058	221664.9
			N	264	264
			Desv. típ.	1.09912	264403.7
		Femenino	Media	4.4803	151282.6
			N	60	60
			Desv. típ.	1.09442	224435.7
mayores	Masculino	Media	4.8861	243121.6	
		N	28	28	
		Desv. típ.	.94469	280054.1	
	Femenino	Media	4.2870	135949.5	
		N	10	10	
		Desv. típ.	1.40980	226159.3	
Tratamiento	jóvenes	Masculino	Media	2.6686	33702.33
			N	1269	1269
			Desv. típ.	1.33524	116398.4
		Femenino	Media	2.7238	29441.48
			N	178	178
			Desv. típ.	1.32769	98573.90
	adultos	Masculino	Media	2.5682	28253.79
			N	1707	1707
			Desv. típ.	1.30284	108049.3
		Femenino	Media	2.5463	26144.88
			N	312	312
			Desv. típ.	1.26969	100269.0
mayores	Masculino	Media	2.3100	11380.43	
		N	256	256	
		Desv. típ.	1.14106	44698.08	
	Femenino	Media	1.9877	5483.0000	
		N	70	70	
		Desv. típ.	.92787	24838.61	

**Cuadro 6.23 Estadísticos Descriptivos de los pacientes con y sin tratamiento antirretroviral para cada grupo de edad**

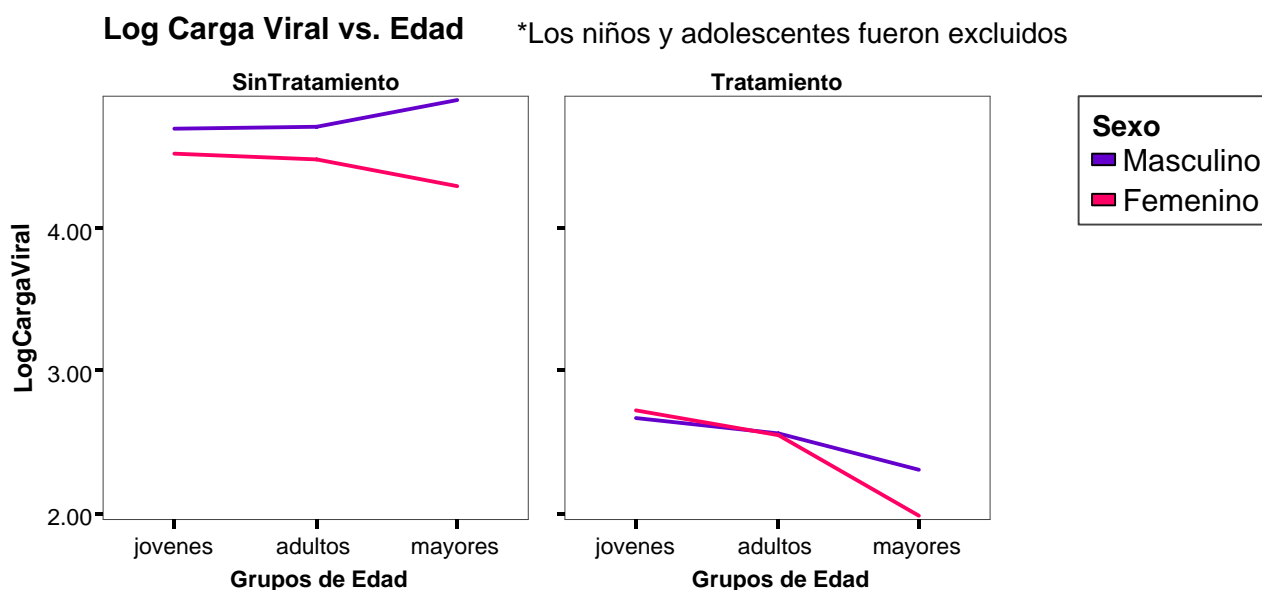
En el cuadro 6.24 se muestra, que para el caso de los pacientes sin tratamiento, las diferencias entre hombres y mujeres, en los grupos de edades correspondientes a jóvenes y adultos, la significancia estadística no es aceptable pues se tiene una probabilidad menor que el 95% de los casos ( $\text{sig} > .05$ ). Sin embargo, aunque no cumple con el criterio, se aproxima a este tanto para jóvenes y adultos, donde la diferencia es significativa para un porcentaje muy cercano de casos ( $\text{sig.} = 0.09, 0.067$ ). La diferencia aumenta para el caso de los pacientes mayores sin embargo la significancia estadística disminuyó para dicho intervalo, aunque es relevante notar que disminuye de igual manera el número de casos en este grupo, lo cual puede explicar la disminución en la significancia. Para el caso de los pacientes bajo tratamiento, no se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres con excepción de los pacientes mayores de 55 años donde la significancia estadística fue aceptable ( $\text{Sig} < .05$ ) mostrando los hombres mayor carga viral, de acuerdo con el cuadro 6.23 más del doble que la observada para las mujeres (carga viral de hombres/carga viral mujeres = 2.07).

Tratamiento	Edad (Categorizada)		LogCarga Viral
Sin Tratamiento	jóvenes	Chi-cuadrado	2.876
		gl	1
		Sig. asintót.	.090
	adultos	Chi-cuadrado	3.364
		gl	1
		Sig. asintót.	.067
	mayores	Chi-cuadrado	1.804
		gl	1
		Sig. asintót.	.179
Tratamiento	jóvenes	Chi-cuadrado	.420
		gl	1
		Sig. asintót.	.517
	adultos	Chi-cuadrado	.004
		gl	1
		Sig. asintót.	.950
	mayores	Chi-cuadrado	4.096
		gl	1
		Sig. asintót.	.043

a. Prueba de Kruskal-Wallis

**Cuadro 6.24. Resultados comparativos de la prueba Kruskal-Wallis para pacientes con y sin tratamiento para cada intervalo de edad, con el sexo como variable de agrupación.**

Otra manera de visualizar el comportamiento de la carga viral para las diferentes edades, es graficando únicamente el promedio de las poblaciones, ya que como se ha comentado con anterioridad, el promedio es una medida de tendencia central relevante pese a la no normalidad de los datos ya que es el valor más cercano al resto de los datos. Esto puede observarse en la fig. 6.20 donde, en la progresión de la carga viral de acuerdo con la edad, pueden distinguirse variaciones en los valores de la carga viral conforme aumenta la edad de los pacientes, en especial en los pacientes mayores respecto a los adultos. Para corroborar la significancia estadística de dichas variaciones se realizaron pruebas de hipótesis, en esta ocasión comparando, no entre sexos, sino entre grupos de edad, en específico entre los adultos y mayores al interior de cada grupo, ya que es entre ellos donde se sabe, existen mayores variaciones en los niveles hormonales, por lo que se buscó entonces alguna variación asociada en la carga viral.



**Fig. 6.20 Progresión de la carga viral según la edad para cada sexo empleando las medias de las poblaciones.**

Sexo	Tratamiento		LogCarga Viral
Masculino	SinTratamiento	Chi-cuadrado	.471
		gl	1
		Sig. asintót.	.493
	Tratamiento	Chi-cuadrado	8.499
		gl	1
		Sig. asintót.	.004
Femenino	SinTratamiento	Chi-cuadrado	.025
		gl	1
		Sig. asintót.	.873
	Tratamiento	Chi-cuadrado	12.198
		gl	1
		Sig. asintót.	.000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

**Cuadro 6.25 Resultados de la prueba Kruskal-Wallis para pacientes con y sin tratamiento y ambos sexos, empleando el grupo de edad como variable de agrupación, buscando diferencias entre adultos y mayores.**

En el cuadro 6.25 pueden observarse la pruebas de hipótesis no paramétricas de Kruskal-Wallis para encontrar variación en la carga viral entre los pacientes adultos (36 a 55) y los pacientes mayores (>55 años) al interior de cada uno de los grupos de sexo y tratamiento. Se observó que la variación en los pacientes mayores sin ningún tratamiento no representa una diferencia significativa estadísticamente (sig. > .05), por el contrario para el caso de los pacientes que están bajo tratamiento sí se observó una variación significativa en los pacientes mayores de 55 años respecto a los pacientes adultos, en los que la carga viral disminuye.

Al parecer, tanto en pacientes tratados como los no tratados, se observó cualitativamente una variación en la carga viral al pasar de los 55 años de edad, sin embargo, esta variación es únicamente significativa para el caso de los pacientes bajo tratamiento. Al parecer el tratamiento disminuye la magnitud de la diferencia entre ambos sexos sólo para pacientes en edad reproductiva, pero después de los 55 años de edad, la carga viral de ambos sexos cambió significativamente y se observó que los hombres tienen más alta carga viral que las mujeres.

### **6.10 El tratamiento y el Conteo Linfocitario**

Pese a que no se encontraron diferencias para los diferentes intervalos de conteo linfocitario cuando se realizó el análisis en el grueso de la población, es importante determinar si dicho comportamiento se mantiene al separar las poblaciones tomando en cuenta la variable del tratamiento antirretroviral. En la fig. 6.21 se observan los diagramas de cajas separando las poblaciones de los pacientes tratados y no tratados para los diferentes intervalos previamente definidos de concentración de linfocitos CD4+ en plasma. Como una primera aproximación se puede observar que resulta difícil definir una sola tendencia para los diferentes grupos. Quizá llama la atención, en los diagramas de los pacientes sin tratamiento, que la carga viral de los hombres tiende a ser más alta que la de las mujeres para el caso de pacientes tratados con conteos linfocitarios altos. Se observa además que esta tendencia se invierte ligeramente cuando los conteos linfocitarios son bajos (<50 células/microlitro) tal y como se ha reportado anteriormente en la literatura [13,15] También se observa que el número de casos es menor para los intervalos extremos.

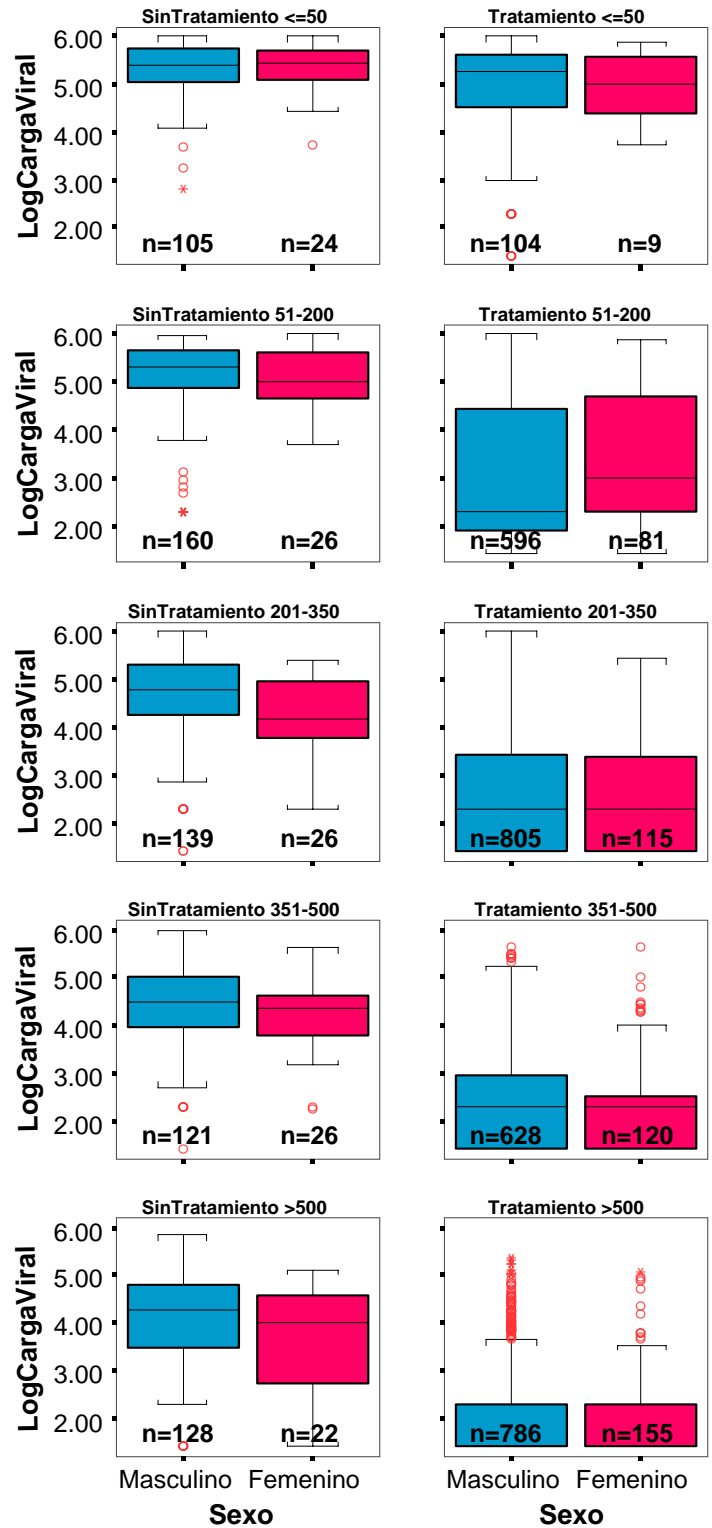


Fig. 6.21. Comparación del efecto del tratamiento en la variación de la carga viral entre sexos, según el nivel de CD4+

Tratamiento	CD4 (Categorizada)	Sexo		LogCarga Viral	Copias
SinTratamiento	<=50	Masculino	Media	5.2989	347074.6
			N	105	105
			Desv. típ.	.58937	287142.9
		Femenino	Media	5.3383	339594.6
			N	24	24
			Desv. típ.	.51521	266922.7
	51-200	Masculino	Media	5.1413	302191.9
			N	160	160
			Desv. típ.	.79764	266944.5
		Femenino	Media	5.0169	236812.7
			N	26	26
			Desv. típ.	.63430	283019.5
	201-350	Masculino	Media	4.6173	162001.6
			N	139	139
			Desv. típ.	.96907	230445.7
		Femenino	Media	4.2350	54733.08
			N	26	26
			Desv. típ.	.79358	74357.62
351-500	Masculino	Media	4.4078	104064.6	
		N	121	121	
		Desv. típ.	.88880	183334.6	
	Femenino	Media	4.2065	60883.73	
		N	26	26	
		Desv. típ.	.86049	98480.02	
>500	Masculino	Media	4.0591	62133.23	
		N	128	128	
		Desv. típ.	1.05186	113070.7	
	Femenino	Media	3.6436	23732.95	
		N	22	22	
		Desv. típ.	1.18377	33110.13	
Tratamiento	<=50	Masculino	Media	4.7241	270646.5
			N	104	104
			Desv. típ.	1.31328	281122.8
		Femenino	Media	4.9400	239050.0
			N	9	9
			Desv. típ.	.78527	271496.9
	51-200	Masculino	Media	3.0773	47868.35
			N	596	596
			Desv. típ.	1.42614	129981.6
		Femenino	Media	3.3186	70469.86
			N	81	81
			Desv. típ.	1.48467	159460.3
	201-350	Masculino	Media	2.5495	21454.39
			N	805	805
			Desv. típ.	1.24602	88139.28
		Femenino	Media	2.4793	8510.5913
			N	115	115
			Desv. típ.	1.16912	29518.84
351-500	Masculino	Media	2.3307	9822.9841	
		N	628	628	
		Desv. típ.	1.13240	40168.50	
	Femenino	Media	2.2358	7116.5917	
		N	120	120	
		Desv. típ.	1.02022	40939.21	
>500	Masculino	Media	2.0698	3571.0763	
		N	786	786	
		Desv. típ.	.93166	17841.76	
	Femenino	Media	2.0366	3324.8065	
		N	155	155	
		Desv. típ.	.89015	15177.01	

Cuadro 6.26 Estadísticos Descriptivos de los pacientes con y sin tratamiento antirretroviral para cada grupo de edad

De acuerdo con el cuadro 6.26 se pueden apreciar ciertas variaciones en las medias de la carga viral al interior de cada población. Otra manera de visualizar los diagramas es representar, como se hizo previamente con la edad, los promedios a manera de progresión. En el curso de la infección, la progresión temporal correlaciona de manera inversa con la concentración de células CD4+ en plasma, por lo que el eje del conteo linfocitario se prefirió en orden descendente. A simple vista se puede decir que las líneas representativas para hombres y mujeres están más separadas para el caso de los pacientes sin tratamiento. Para determinar la significancia estadística en cada intervalo de alguna de estas diferencias se realizó la prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados (Cuadro 6.27) muestran que la diferencia solo puede considerarse estadísticamente significativa para el caso de los pacientes sin tratamiento en el intervalo de 201-350 células/microlitro, donde de acuerdo con el cuadro 6.26 los hombres tienen en promedio aproximadamente el triple que las mujeres (proporción de la carga viral de hombres respecto a la carga viral de mujeres de 2.95).

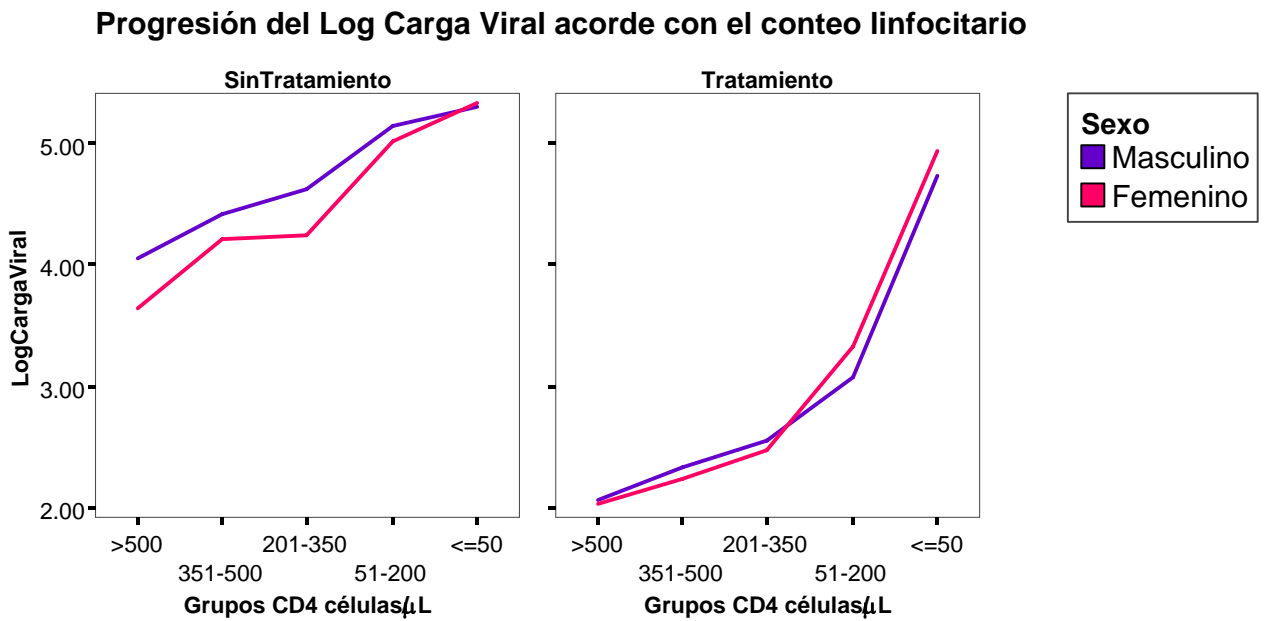


Fig. 6.22. Progresión de la carga viral según el conteo linfocitario para cada sexo empleando las medias de las poblaciones.

Conteo CD4+ Prueba no paramétrica<sup>a,b</sup>

Tratamiento	CD4 (Categorizada)		LogCarga Viral
Sin Tratamiento	<=50	Chi-cuadrado	.009
		gl	1
		Sig. asintót.	.923
	51-200	Chi-cuadrado	2.323
		gl	1
		Sig. asintót.	.127
	201-350	Chi-cuadrado	6.074
		gl	1
		Sig. asintót.	.014
	351-500	Chi-cuadrado	1.328
		gl	1
		Sig. asintót.	.249
>500	Chi-cuadrado	2.167	
	gl	1	
	Sig. asintót.	.141	
Tratamiento	<=50	Chi-cuadrado	.010
		gl	1
		Sig. asintót.	.920
	51-200	Chi-cuadrado	2.201
		gl	1
		Sig. asintót.	.138
	201-350	Chi-cuadrado	.163
		gl	1
		Sig. asintót.	.686
	351-500	Chi-cuadrado	.222
		gl	1
		Sig. asintót.	.637
>500	Chi-cuadrado	.056	
	gl	1	
	Sig. asintót.	.812	

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Sexo

**Cuadro 6.27. Resultados de la prueba Kruskal-Wallis para pacientes con y sin tratamiento, empleando el grupo de conteo linfocitario como variable de agrupación, buscando diferencias entre ambos sexos.**

Para poder analizar mejor el comportamiento de acuerdo con el conteo linfocitario se optó por hacer una división de intervalos menos fina, y tomar en cuenta sólo dos grupos escogiendo como punto de corte 200 células/microlitro. Este valor toma relevancia, ya que en el protocolo de tratamiento aceptado nacionalmente, se recomienda tratar a pacientes, sin importar si son asintomáticos, cuando sus niveles de CD4+ están por debajo de dicho valor [19]. Ya que dicho valor es importante no sólo porque refleja un desgaste inmunológico considerable en el paciente sino que determina el inicio del tratamiento, se separó la población en dos grupos, cuyos valores se encontraban por arriba y por debajo de 200 células/microlitro. Cuando el paciente se encuentra en el intervalo entre 200-350 células/microlitro, se sugiere discutir los beneficios y efectos secundarios de la terapia y a su vez tomar en cuenta la carga viral para tomar una decisión la cual se deja principalmente al criterio del médico, el cual debe tomar en cuenta la toxicidad de la terapia, y las ventajas y desventajas que ésta puede representar. En este intervalo de 200-350 células/microlitro se determinó con anterioridad que es significativa la diferencia que existe entre la carga viral de hombres y mujeres teniendo los hombres mayor carga viral. En este intervalo se recomienda tomar en cuenta la carga viral, si ésta es mayor que 100,000 copias/mL (equivalente a 5 en  $\log_{10}$ ) se recomienda tratar, en caso contrario no se recomienda (Cuadro 4.2). Esto indica que en este intervalo de conteo linfocitario es relevante tomar en cuenta las diferencias que pudieran existir en la carga viral de hombres y mujeres. Por lo tanto de manera más amplia cuando el paciente tiene un conteo linfocitario mayor que 200 células/microlitro es claro que el médico debe ampliar el criterio y tomar en cuenta todas las

variables para tomar una decisión por eso resulta relevante si las diferencias de género son un criterio más a considerar.

En el diagrama de cajas para los pacientes sin tratamiento parecen observarse diferencias en ambos grupos de conteo linfocitario (fig. 6.23), sin embargo, se procedió a realizar las pruebas estadísticas correspondientes.

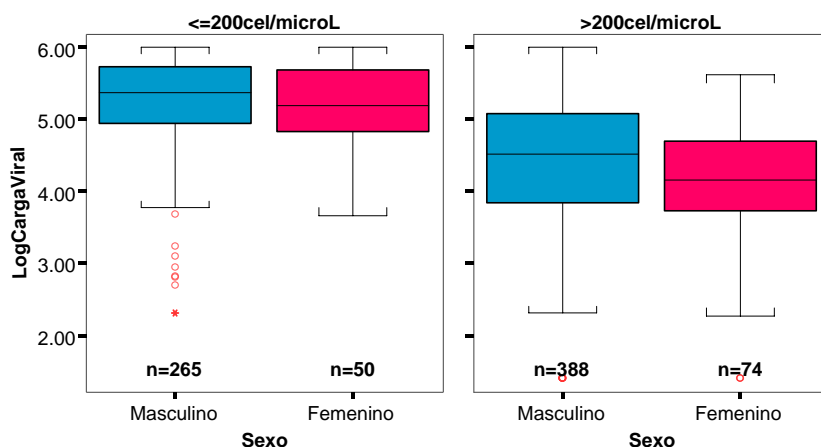


Fig. 6.23. Comparación en la variación de la carga viral entre sexos para dos grupos en el nivel de CD4+

CD4 (Categorizada)		LogCarga Viral
.	Chi-cuadrado	1.086
	gl	1
	Sig. asintót.	.297
<=200cel/microL	Chi-cuadrado	.916
	gl	1
	Sig. asintót.	.339
>200cel/microL	Chi-cuadrado	8.004
	gl	1
	Sig. asintót.	.005

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Sexo

Cuadro 6.28. Resultados de la prueba Kruskal-Wallis para *sin tratamiento*, empleando el dos de conteo linfocitario como variable de agrupación, buscando diferencias entre ambos sexos.

Si se separa la población tomando las 200 células/microlitro como punto de corte, esto nos permite tener más casos para el análisis estadístico a ambos lados de dicho valor, en especial para el caso de las mujeres donde las observaciones son pocas. En el cuadro 6.28 se observa que la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis indica que justo en el intervalo donde el médico debe emplear más de un criterio para determinar si debe iniciar un tratamiento antirretroviral, es decir cuando el conteo linfocitario es mayor que 200 células/microlitro, existen diferencias en la carga viral de hombres y mujeres, siendo la de los hombres más elevada.

Como uno de los criterios de decisión a considerar una vez que se conoce que el conteo linfocitario es aún elevado (>200 células/microlitro) es que la carga viral sea mayor o menor que 100,000 copias/mL, se construyó una tabla de contingencia (Cuadro 6.29) relacionando el número de casos cuya carga viral esta por arriba o por debajo de dicho valor y el sexo de los pacientes.



Recuento

CD4 (Categorizada)			Sexo		Total
			Masculino	Femenino	
<=200cel/microL	LogCargaViral	<=100,000 copias/ml	75	18	93
	(Categorizada)	>100,000 copias/ml	190	32	222
	Total		265	50	315
>200cel/microL	LogCargaViral	<=100,000 copias/ml	286	62	348
	(Categorizada)	>100,000 copias/ml	102	12	114
	Total		388	74	462

**Cuadro 6.29. Tabla de contingencia para pacientes *sin tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por grupos de CD4+ y por el número de casos cuya carga viral está por arriba y por debajo de 100,000 copias/mL.**

**Pruebas de chi-cuadrado**

CD4 (Categorizada)		Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
<=200cel/microL	Chi-cuadrado de Pearson	1.198 <sup>b</sup>	1	.274	.311	.177
	Corrección por continuidad	.857	1	.355		
	Razón de verosimilitud	1.162	1	.281		
	Estadístico exacto de Fisher					
	Asociación lineal por lineal	1.194	1	.274		
	N de casos válidos	315				
>200cel/microL	Chi-cuadrado de Pearson	3.392 <sup>c</sup>	1	.066	.077	.041
	Corrección por continuidad	2.872	1	.090		
	Razón de verosimilitud	3.658	1	.056		
	Estadístico exacto de Fisher					
	Asociación lineal por lineal	3.385	1	.066		
	N de casos válidos	462				

a. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 14.76.

c. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 18.26.

**Cuadro 6.30. Pruebas de Chi-cuadrada para la tabla de contingencia para los pacientes *sin tratamiento* antirretroviral con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral está por arriba y por debajo de 100,000 copias/mL.**

**Medidas simétricas**

CD4 (Categorizada)			Valor	Sig. aproximada
<=200cel/microL	Nominal por nominal	Phi	-.062	.274
		V de Cramer	.062	.274
		Coefficiente de contingencia	.062	.274
	N de casos válidos		315	
>200cel/microL	Nominal por nominal	Phi	-.086	.066
		V de Cramer	.086	.066
		Coefficiente de contingencia	.085	.066
	N de casos válidos		462	

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

**Cuadro 6.31. Medidas simétricas de asociación para los dos grupos de conteo linfocitario de la tabla de contingencia de pacientes *sin tratamiento* antirretroviral, con el número de casos divididos por sexo y por el número de casos cuya carga viral está por arriba y por debajo 100,000 copias/mL.**

En los cuadros 6.30 y 6.31 puede verse que la significancia estadística de las pruebas para los pacientes con más de 200 células/ $\mu$ L, no es menor que el criterio de aceptación de la prueba (Sig.<.05). Sin embargo, sobre todo si se considera el valor obtenido de la razón de verosimilitud (Sig = .056), nos aproximamos bastante al criterio de aceptación. El valor de la significancia obtenido nos permite afirmar con una probabilidad del 94.4% que los renglones y las columnas están relacionadas, es decir, que el sexo puede estar relacionado con el hecho de que la carga viral esté o no por encima de las 100,000 copias/mL, para los pacientes cuyo conteo linfocitario es mayor a 200 células/microlitro.

### 6.11 Correlación entre las variables

El coeficiente de correlación es una medida de la relación lineal entre dos variables medidas con escala numérica y nos permite explorar la idea sobre el valor premonitorio de una característica sobre otra. El coeficiente de determinación se obtiene al elevar el coeficiente de correlación al cuadrado y significa el porcentaje de la variación en los valores para uno de los parámetros que depende de otro parámetro relacionado. Comúnmente se calcula el coeficiente de correlación de Pearson, sin embargo, el valor de dicho coeficiente se ve afectado en el caso de la presencia de outliers, varianzas desiguales, no-normalidad y no-linealidad. La correlación de rangos de Spearman, a veces llamada rho de Spearman puede emplearse para describir la relación entre dos características ordinales o una ordinal y otra numérica, sin embargo, también es el método estadístico apropiado para usarse con variables numéricas cuyas distribuciones no son normales, como es nuestro caso. Cuando las distribuciones se alejan de la normalidad, uno de los diversos métodos para enfrentar el problema es precisamente ordenar los datos por rango y calcular la correlación con los rangos para obtener la correlación no paramétrica rho de Spearman. Un coeficiente de correlación tanto de Spearman como de Pearson, puede variar desde 0, indicando una relación aleatoria, hasta 1, indicando una perfecta relación lineal o -1 indicando una perfecta relación lineal negativa. Los expertos señalan [23] que por lo general correlaciones de 0 a 0.25 indican muy poca o ninguna relación, las que van de 0.25 a 0.50 señalan un grado mínimo de relación, las que son de 0.50 a 0.75 implican una relación de moderada a buena y las mayores que 0.75 señalan una relación de buena a excelente. En este estudio nos interesa encontrar la correlación que existe entre la carga viral y las diferentes variables, y la variación de dicha correlación de acuerdo con el sexo de los pacientes. Por lo tanto se buscan las correlaciones mayores que 0.25 entre la carga viral y el resto de las variables. Como ya se determinó con anterioridad que la carga viral es en efecto diferente entre pacientes tratados y no tratados, se separaron las poblaciones para encontrar las correlaciones de la carga viral al interior de ambos grupos.

**Correlaciones**

Tratamiento				LogCarga Viral	Sexo
Sin Tratamiento	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.091**
			Sig. (bilateral)	.	.008
			N	851	851
	Sexo	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	-.091**	1.000
			Sig. (bilateral)	.008	.
			N	851	852
Tratamiento	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.012
			Sig. (bilateral)	.	.473
			N	3794	3794
	Sexo	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	-.012	1.000
			Sig. (bilateral)	.473	.
			N	3794	3797

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

**Cuadro 6.32. Medidas de correlación no paramétrica entre el Log de la carga viral y el sexo para pacientes tratados y sin tratamiento por separado.**

En el cuadro 6.32 puede verse la correlación entre la carga viral y el sexo, la cual resulta significativa ( $\text{sig} < .05$ ) para el caso de los pacientes sin tratamiento a diferencia de los pacientes tratados donde dicha correlación no es significativa. Esto es de esperarse de acuerdo con los resultados de los análisis previamente realizados, donde existen diferencias sólo para el caso de los pacientes sin tratamiento antirretroviral. Aunque la correlación es significativa para el caso de los pacientes no tratados, el coeficiente de correlación ( $r = .091$ ) es muy bajo en magnitud lo cual indica que una proporción muy baja de la variación de la carga viral puede explicarse en términos del sexo. Esto es de esperarse ya que muchas otras variables clínicas pueden estar relacionadas con valor de la carga viral además del sexo. El coeficiente de correlación, que indica una correlación débil, es de signo negativo como es de esperarse, ya que el sexo se codificó como variable *dummy* siendo el sexo masculino = 0 y femenino = 1, por lo que a mayor carga viral es más probable que se trate de un paciente de sexo masculino.

#### Correlaciones

Tratamiento				LogCarga Viral	Edad
Sin Tratamiento	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	.108**
			Sig. (bilateral)	.	.002
		N	851	851	
	Edad	Coeficiente de correlación	.108**	1.000	
	Sig. (bilateral)	.002	.		
	N	851	852		
Tratamiento	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.087**
			Sig. (bilateral)	.	.000
		N	3794	3794	
	Edad	Coeficiente de correlación	-.087**	1.000	
	Sig. (bilateral)	.000	.		
	N	3794	3797		

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

**Cuadro 6.33. Medidas de correlación no paramétrica entre el Log de la carga viral y la edad para pacientes tratados y sin tratamiento por separado.**

En el cuadro 6.33 se observa que la correlación entre la edad y la carga viral es significativa para ambos grupos de tratamiento, sin embargo en ambos casos la magnitud del coeficiente es muy pequeña, sugiriendo una correlación muy débil entre ambas variables. Resalta el hecho de que para el caso de los pacientes sin tratamiento, se trata de una correlación positiva, es decir, en general a mayor edad mayor carga viral, por el contrario para el caso de los pacientes bajo tratamiento antirretroviral la correlación es negativa, como ya se había mencionado con anterioridad (Sección 6.9).

**Correlaciones**

Tratamiento				LogCarga Viral	CD4
Sin Tratamiento	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coefficiente de correlación	1.000	-.525**
			Sig. (bilateral)	.	.000
	CD4	LogCargaViral	Coefficiente de correlación	-.525**	1.000
			Sig. (bilateral)	.000	.
		N	851	777	
Tratamiento	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coefficiente de correlación	1.000	-.344**
			Sig. (bilateral)	.	.000
	CD4	LogCargaViral	Coefficiente de correlación	-.344**	1.000
			Sig. (bilateral)	.000	.
		N	3794	3399	
		N	3399	3402	

\*\* : La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

**Cuadro 6.34. Medidas de correlación no paramétrica entre el Log de la carga viral y el conteo linfocitario para pacientes tratados y sin tratamiento por separado.**

La correlación de la carga viral con el conteo linfocitario como marcador clínico del estado inmunológico de los pacientes, como se vio con anterioridad (Fig. 3.3) es un componente clave en la dinámica de la infección. El cuadro 6.34 muestra que el conteo linfocitario es de las variables clínicas predictivas con la que se cuenta, la más importante en relación a la carga viral de un paciente. Su magnitud indica entonces una buena correlación y el signo negativo indica mayor probabilidad de que a mayor carga viral menor conteo linfocitario y viceversa como era de esperarse. También se observa que la magnitud de la correlación entre ambas variables es mayor para el caso de los pacientes sin tratamiento. Una menor correlación en los pacientes tratados puede asociarse a una mayor variabilidad de la carga viral debido a nuevas variables como el esquema de tratamiento de cada paciente. Aunque el sexo y la carga viral parecen tener una muy débil relación, resulta relevante determinar si la correlación entre la carga viral y el conteo linfocitario cambia de acuerdo al sexo. Para ello se determinaron las correlaciones para cada grupo por separado, ya el objetivo de este estudio está centrado en explorar las diferencias de género en la dinámica viral.

**Correlaciones**

Tratamiento	Sexo	Rho de Spearman	LogCargaViral		LogCarga Viral	CD4	
SinTratamiento	Masculino	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.508**	
				Sig. (bilateral)	.	.000	
				N	715	653	
				CD4	Coeficiente de correlación	-.508**	1.000
					Sig. (bilateral)	.000	.
					N	653	654
	Femenino	Rho de Spearman	LogCargaViral	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.618**
					Sig. (bilateral)	.	.000
N					136	124	
CD4					Coeficiente de correlación	-.618**	1.000
				Sig. (bilateral)	.000	.	
				N	124	124	
Tratamiento	Masculino	Rho de Spearman	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.340**	
				Sig. (bilateral)	.	.000	
				N	3234	2919	
				CD4	Coeficiente de correlación	-.340**	1.000
					Sig. (bilateral)	.000	.
					N	2919	2922
	Femenino	Rho de Spearman	LogCargaViral	LogCargaViral	Coeficiente de correlación	1.000	-.363**
					Sig. (bilateral)	.	.000
N					560	480	
CD4					Coeficiente de correlación	-.363**	1.000
				Sig. (bilateral)	.000	.	
				N	480	480	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

**Cuadro 6.35. Medidas de correlación no paramétrica entre el Log de la carga viral y el conteo linfocitario para pacientes tratados y sin tratamiento por separado y para cada uno de los sexos por separado**

En el cuadro 6.35 se observa que la correlación entre la carga viral y el conteo linfocitario es significativa ( $\text{sig} < .05$ ) para todos los subgrupos de la población. También resalta el hecho de que la magnitud de la correlación es muy similar entre ambos sexos para el caso de los pacientes tratados. Por el contrario se observa una diferencia en las magnitudes de la correlación entre la carga viral y el conteo linfocitario en el caso de los pacientes sin tratamiento, donde las mujeres parecen tener una correlación mayor. Este podría indicar, en términos de una relación lineal, mayores cambios en la carga viral en las mujeres con respecto a los hombres para un cambio de la misma magnitud en el conteo linfocitario. Una pendiente más rápida en las mujeres puede indicar, como se discutirá más adelante una diferente relación entre la carga viral y el sistema linfático y/o inmunológico para cada género.

### **6.12 El análisis de Regresión**

La regresión lineal múltiple por mínimos cuadrados, se emplea para analizar y predecir la varianza de una variable dependiente, basándose en las combinaciones lineales de variables independientes de tipo intervalo, dicotómicas o variables binarias (*dummy*). La regresión lineal múltiple, al igual que la correlación, permite establecer que una serie de variables independientes explican determinada proporción de la varianza de una variable dependiente a un nivel de significancia (a través de la prueba de significancia de  $R^2$ ) pero además permite establecer la importancia predictiva relativa para cada una de las variables independientes. Es decir esta técnica nos permite determinar una ecuación para predecir el valor del resultado o variable dependiente a partir de los valores de ciertas variables explicativas. La correlación entre las variables calculada con anterioridad es independiente de la escala, es decir, la correlación

entre dos variables es la misma sin importar las unidades empleadas para medir dichas variables, sin embargo una ecuación de regresión, sí depende de la escala y nos permite predecir el valor de una variable en términos de la otra usando determinadas unidades. Precisamente por su poder predictivo resultó interesante aplicar un análisis de regresión para la carga viral y el conteo linfocitario, ya que este último demostró ser un parámetro clínico relevante para la carga viral, en el análisis de correlación.

Para realizar un análisis de regresión las observaciones debe tener ciertas propiedades:

- Normalidad. Más que la normalidad en general de la variable dependiente (carga viral), (con anterioridad ya se determinó la no normalidad de la carga viral), se supone que para cada valor de la variable independiente, la carga viral tiene una distribución normal y que la media de la distribución es el valor predicho por el análisis de regresión.
- Linealidad. La regresión sólo describe relaciones lineales entre las variables.
- Homoscedasticidad. Supone la igualdad en las variaciones (desviación estándar) de la variable dependiente a través de todo el rango de la variable independiente.

Si alguna de éstas no se cumple se puede debilitar considerablemente el análisis de regresión. En la siguiente gráfica (Fig. 6.24) puede verse que, a simple vista, es probable que exista una relación lineal entre el conteo linfocitario y la carga viral, incluso puede calcularse una ecuación de regresión lineal que determine la relación lineal entre ambas o bien una regresión lineal para cada sexo por separado. En la Fig. 6.34 se observa las líneas correspondientes a la ecuación resultante de una regresión lineal para toda la población sin tratamiento (negro) y para cada una de los sexos de los pacientes. Comparando visualmente las pendientes de la recta resultante para hombres y mujeres, se observa, lo que ya se había concluido con anterioridad, es decir, que existe una mayor correlación o pendiente para el caso de la población femenina. Sin embargo para determinar si la ecuación resultante del análisis de regresión tiene algún sentido, debe considerarse si los datos cumplen con las propiedades deseadas. Una opción práctica es construir una gráfica de dispersión de los residuales. Los residuales son la diferencia entre los valores medidos y los predichos para la variable dependiente en el análisis de regresión. Si los datos se distribuyen normalmente, se espera que los residuales también lo hagan mostrando en un gráfico de dispersión de residuales, una mayor concentración de residuales en el centro de manera simétrica. Por otro lado, si la relación es lineal se espera que los residuales se distribuyan a manera de un rectángulo, y si se cumple la homoscedasticidad se espera que la dispersión de los residuales sea homogénea con la misma dispersión o grosor para todos los valores de la variable independiente. Si se observan cúmulos esto indica claramente la no homoscedasticidad de los datos.

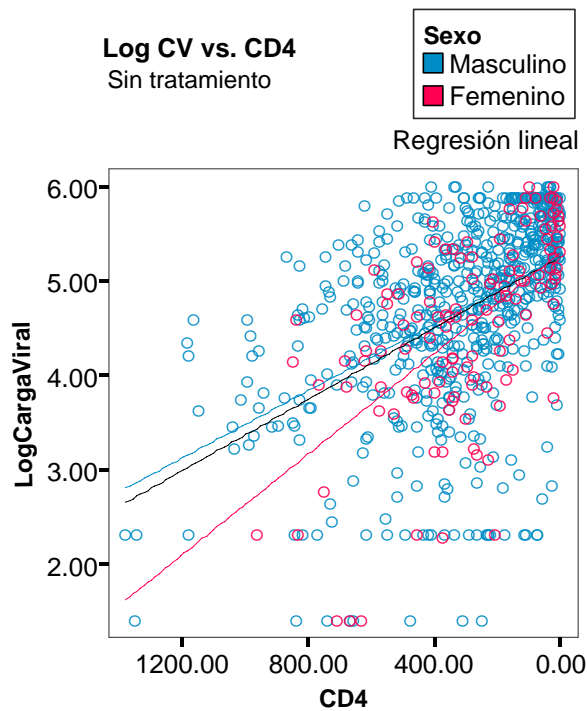


Fig. 6.24 Carga Viral vs. CD4+. Grafico de dispersión y líneas de regresión para toda las población (negro) y para las poblaciones de pacientes mujeres y hombres *sin tratamiento* por separado.

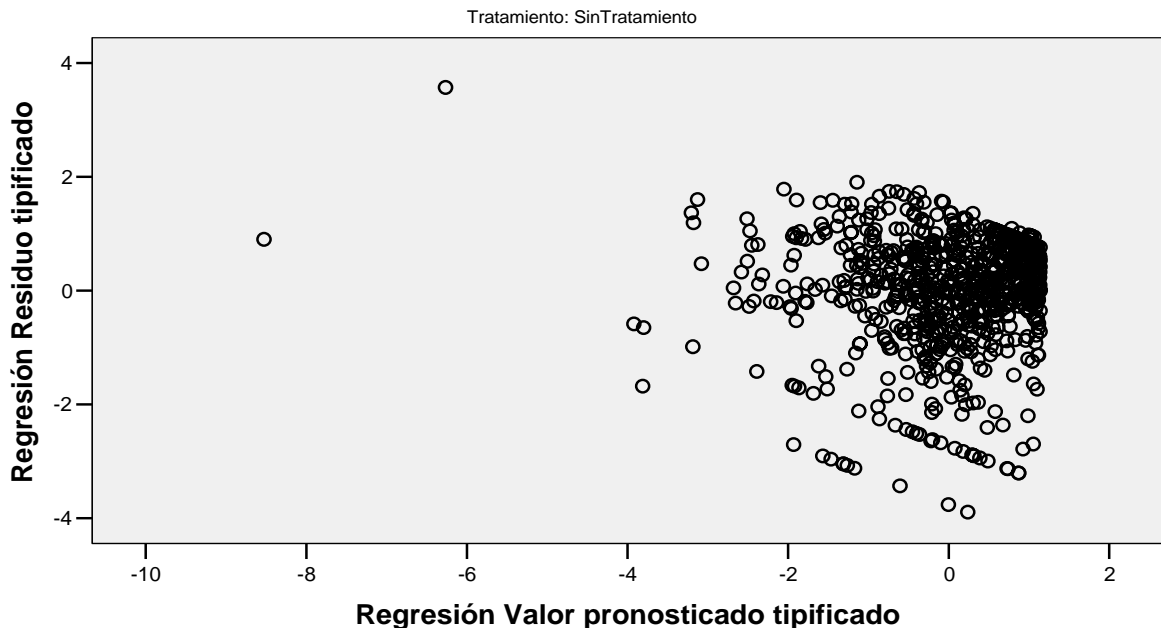


Fig. 6.25 Grafico de dispersión de residuales tipificados o estandarizados para la regresión lineal entre la carga viral y el conteo linfocitario en pacientes *sin tratamiento*.

En la Fig. 6.25 se obtuvo la gráfica de dispersión de los residuos, como resultado del análisis de regresión entre la carga viral y el conteo linfocitario para los pacientes sin tratamiento, y se ven claramente cúmulos de puntos que indican la heterocedasticidad de los datos, lo cual debilita enormemente la validez de una ecuación de regresión. Ante la posibilidad de mejorar esta situación si la distribución de la carga viral se aproxima más a la distribución

normal, se intentó crear una nueva población de pacientes eliminando los límites extremos superiores e inferiores de detección en la distribución de carga viral (Ver Fig. 6.2) y se repitió el análisis de regresión.

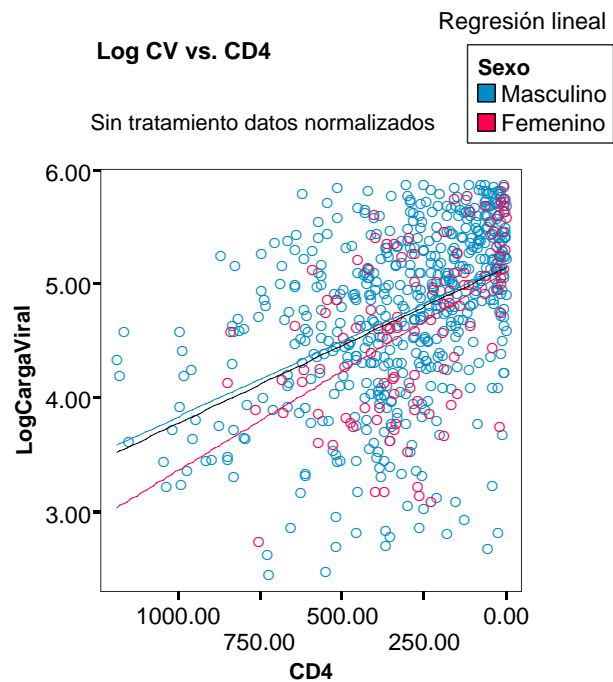


Fig. 6.26 Carga Viral vs. CD4+. Grafico de dispersión y líneas de regresión para los datos sin límites extremos de detección de pacientes mujeres y hombres *sin tratamiento* por separado.

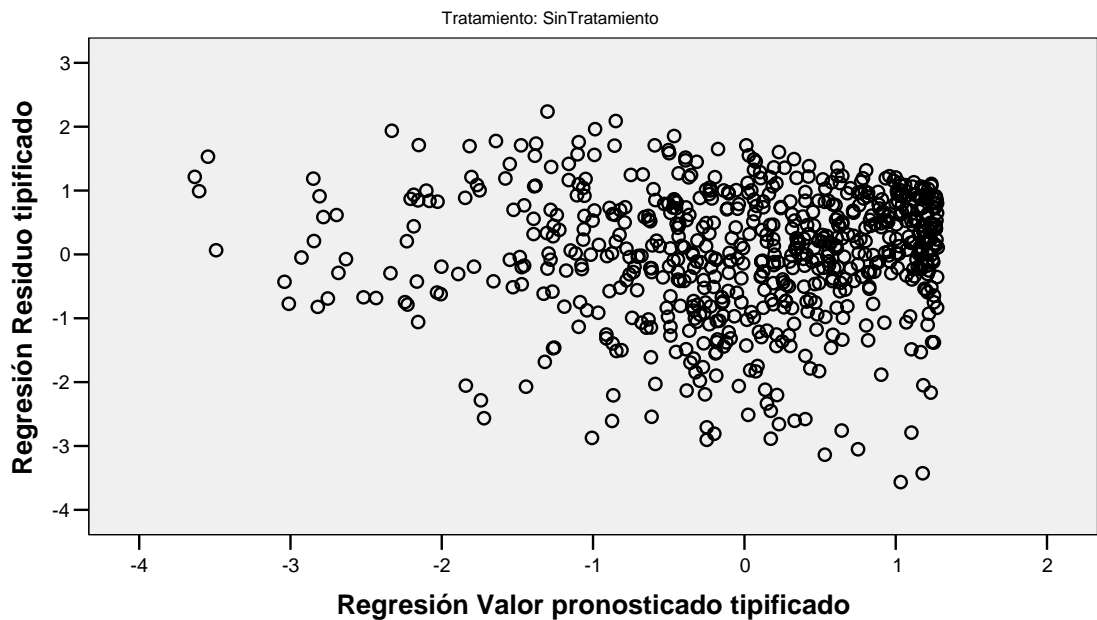


Fig. 6.27 Grafico de dispersión de residuales tipificados para la regresión lineal entre la carga viral y el conteo linfocitario en pacientes *sin tratamiento* previamente normalizados sin límites extremos de detección.

En la figura 6.26 se observa que al eliminar los límites inferiores y superiores de detección la dispersión de los datos es más homogénea y desaparecen las líneas inferiores que se observan con claridad en la figura 6.24. Las líneas de la figura 6.26 de nuevo corresponden a las regresiones lineales de la carga viral de la nueva población de pacientes tratados. Comparativamente, la tendencia entre las pendientes de hombres y mujeres continúa siendo la misma. En la figura 6.27 se observa el gráfico de dispersión de residuales para la nueva



población sin embargo de nueva cuenta se observa claramente una distribución no homogénea de los residuales lo cual indica la no homeocedasticidad de los mismos y por lo tanto la limitación para obtener una ecuación que resulte relevante. Sin embargo el análisis de regresión nos permitió confirmar las correlaciones cualitativas descritas en la sección previa.

También se realizaron diferentes análisis de regresión múltiple con el resto de las variables, que no se muestran en este trabajo, determinándose en cada uno de ellos, que el comportamiento (la heterocedasticidad) de los datos en todos los casos limita la determinación de una ecuación relevante o predictiva para la carga viral en términos de el resto de las variables para hombres y mujeres, sin embargo, aunque no de manera cuantitativa, se cumplió con el objetivo de determinar las relaciones de las diferentes variables y la carga viral como se describió con claridad en el cálculo de correlaciones (Sección 6.11).

### 6.13 Falla Viroológica

Aunque rebasa los objetivos de este estudio, es de relevante interés conocer la efectividad de los esquemas de tratamiento recibidos por los pacientes que conforman la base de datos. Una forma aproximada de estimar esto, es de acuerdo con la definición de falla virológica, la cual de acuerdo con las recomendaciones internacionales [19], puede definirse como niveles confirmados de RNA viral superiores a 400 copias/mL después de 24 semanas (3 meses), o más de 50 copias/mL después de 48 semanas, o bien niveles repetidos de RNA viral superiores a 400 copias/mL después de una supresión previa de la viremia < 400 copias/mL. Aunque nuestra base de datos no cuenta con la información exacta del tiempo que transcurrió para cada paciente desde la última medición de carga viral, se sabe que la distancia entre las mediciones de carga viral en dicho laboratorio es en promedio de mínimo 3 meses, máximo de 6 meses, por lo que si un paciente aparece como bajo tratamiento, esto indica que probablemente se trata de un paciente que tiene al menos 3 meses de tratamiento. Con esta información se puede determinar el porcentaje de los pacientes que aparecen bajo tratamiento antirretroviral, cuya carga viral es superior a las 400 copias/mL, para encontrar el porcentaje de los pacientes tratados que se encuentran en probable falla virológica, y para los cuales se recomienda valorar el cambio de régimen antirretroviral.

#### Pacientes Bajo Tratamiento Antirretroviral

Falla Viroológica

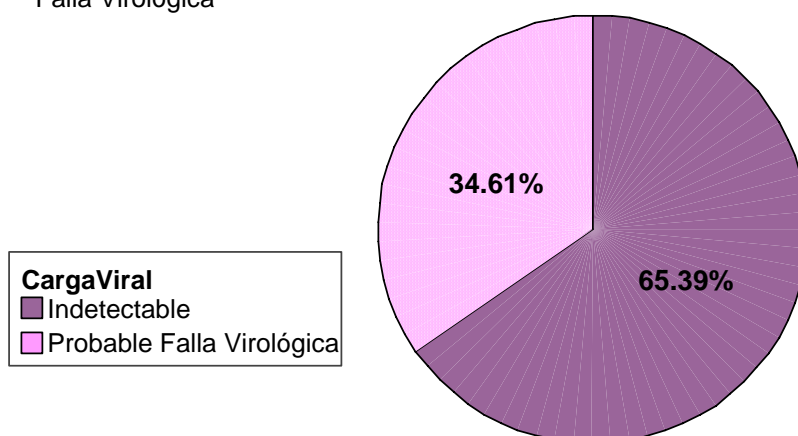


Fig. 6.28 Gráfico de sectores con los porcentajes de pacientes con probable falla virológica para pacientes *bajo tratamiento*.

En la figura 6.28 se observa que casi el 35% de los pacientes bajo tratamiento podrían estar en falla virológica y que sólo el 65% de los pacientes tratados tienen carga viral indetectable.

Esto pudiera indicar la necesidad de revisar los esquemas de tratamiento que se prefieren. Por otra parte si observa el mismo gráfico separado por sexos, se observa que las proporciones son muy similares, siendo la proporción de probables pacientes en falla muy ligeramente mayor para el caso de los hombres. También, al ser mayor el número de pacientes del sexo masculino, el número absoluto de pacientes con probable falla en el tratamiento es mayor para el caso de los pacientes de sexo masculino.

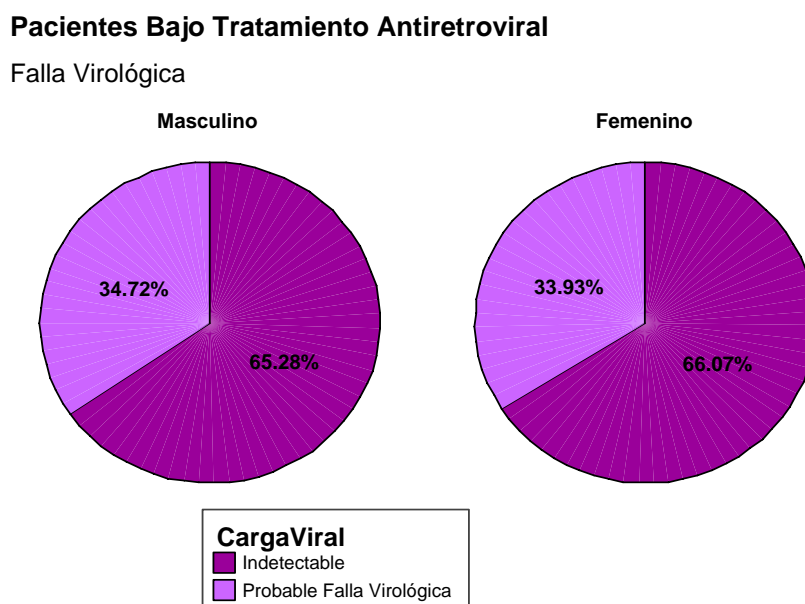


Fig. 6.29. Grafico de sectores con los porcentajes de pacientes con probable falla virológica para las poblaciones de pacientes mujeres y hombres bajo tratamiento por separado.

#### 6.14 La dinámica viral y el modelo de los tres compartimentos

De acuerdo con los resultados previos (Sección 6.7) se puede concluir de manera general que en población mexicana existen diferencias en la carga viral entre hombres y mujeres infectados por el VIH, lo cual implica que existen diferencias en la dinámica de la infección que aún se deben explorar.

En trabajos previos se ha propuesto un modelo dinámico de tres compartimentos [2] para tratar de explicar la dinámica del VIH frente a las terapias farmacológicas actuales. Este modelo dinámico tricompartmental predice correctamente la dinámica viral de datos de pacientes reportados en la literatura, y nos da elementos para entender a que pueden deberse las diferencias en la dinámica viral entre hombres y mujeres.

El estudio de la dinámica del VIH-1 ha sido crítico para entender la patogenia de la infección debida a virus. Pese a que el virus ha sido caracterizado a nivel molecular con gran precisión aun existen preguntas fundamentales sobre sus mecanismos de acción sin responder. Se desconoce aún con precisión cómo mata el virus, cuál es el origen y los efectos de la severa disminución de los linfocitos T CD4+ en el plasma, y cómo es que un virus con una tasa de replicación de  $10^{10}$  viriones por día induce una enfermedad con un periodo asintomático de aproximadamente 10 años. Para tratar de entender mejor la evolución de la infección y la enfermedad diversos autores han propuesto diferentes modelos dinámicos matemáticos que pretenden describir el comportamiento del VIH-1 y analizar la dinámica de las poblaciones celulares en interacción con el virus [24,25,26,27].

El modelo tres compartimentos [2] es una alternativa puede capaz de describir la dinámica de las células del sistema inmunológico y de los virus tras la aplicación de terapia HAART. Como ya se ha mencionado, este tipo de terapia inhibe la reproducción viral, ya sea bloqueando la trascrición del RNA viral, y frenando el proceso de duplicación, o mediante la inhibición de la producción de enzimas que favorecen la partición adecuada de las poliproteínas virales en el interior de la célula y con ello favoreciendo que las partículas virales generadas sean defectuosas y por lo tanto no infecciosas. El modelo propuesto intenta reproducir la evolución viral en tres compartimentos: plasma sanguíneo (BP) , espacios intersticiales en órganos linfoides (LT-IS) y células foliculares dendríticas FDC's (Fig. 6.30). Las células foliculares dendríticas son células localizadas al interior de los ganglios linfáticos (Fig. 6.31) que pese a que no son sensibles a la infección del virus, éste puede adherirse a ellas durante largos periodos, constituyendo un reservorio relevante para el virus. Se considera que después de la terapia el virus alcanza un estado cuasi-estable y que transita entre los tres compartimentos con diferentes tasas de transferencia.

Se consideran las razones de cambio de las poblaciones de partículas de VIH-1 en los tres compartimentos: virus libre en plasma sanguíneo, denotado por  $V_B$ , virus libre en espacios intersticiales del tejido linfático,  $V_L$ , y virus ligado en forma de complejos inmunes a las células dendríticas foliculares  $V_F$ , con tasas de desaparición intrínsecas,  $c_B$ ,  $c_L$  y  $c_F$ , respectivamente.

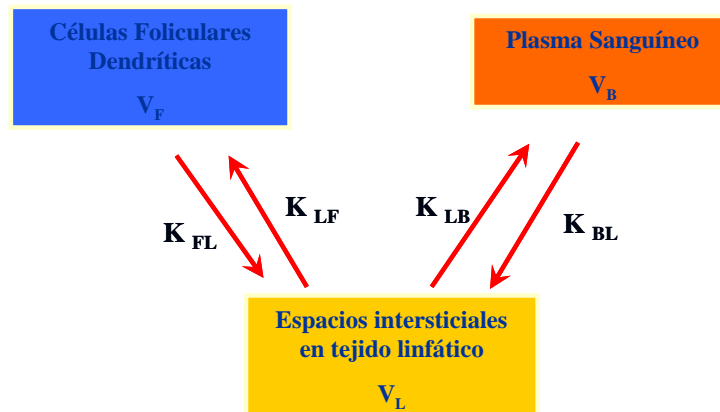


Fig. 6.30 Esquema de la distribución compartimental del VIH en el modelo de tres compartimentos. Las flechas indican un tránsito intercompartimental del virus cada una con su tasa de transferencia correspondiente.

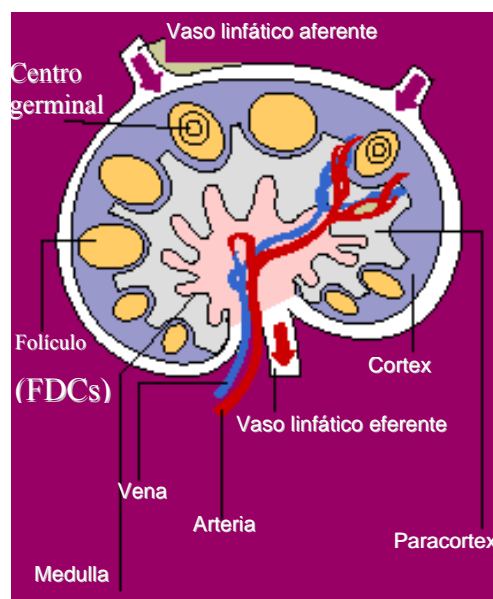


Fig. 6.31 Ganglio linfático y localización de las células foliculares dendríticas.

El modelo considera números totales de partículas y no sus concentraciones, ya que cada compartimiento es de naturaleza muy diferente [2]. Se supone que el virus es generado en el plasma y en el tejido linfático por linfocitos T CD4<sup>+</sup> infectados y productores de virus. Los números de estas células en cada compartimiento se denotan por  $T_B^*$ ,  $T_L^*$  respectivamente, con tasas promedio de decaimiento  $\delta_B$ ,  $\delta_L$ . Es factible considerar que  $\delta_B = \delta_L = \delta_1$ . Por otro lado, se considera que los linfocitos T CD4<sup>+</sup> no infectados, denotados por  $T_B$  (en plasma), y  $T_L$  (tejido linfático), pueden infectarse a una razón  $k_T$ . De acuerdo a lo anterior, la dinámica de las células en el plasma y en el tejido linfático se describe de acuerdo con las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dT_B^*}{dt} = k_T V_B T_B - \delta_1 T_B^* \quad (1)$$

$$\frac{dT_L^*}{dt} = k_T V_L T_L - \delta_1 T_L^* \quad (2)$$

Se supone que cada célula infectada en cualquier compartimiento produce  $N_T$  partículas virales durante su tiempo de vida, entonces las fuentes productoras de virus de vida corta serán de la forma  $S_B = N_T \delta_T T_B^*$ , y  $S_L = N_T \delta_T T_L^*$ . Las tasas de transferencia entre los compartimientos están dadas por  $k_{ij}$  donde los subíndices indican el tránsito del compartimiento  $i$  al compartimiento  $j$ . En esos términos, la razón de cambio de los virus en los distintos compartimientos se representa por:

$$\frac{dV_B}{dt} = S_B - (c_B + k_{BL})V_B + k_{LB}V_L \quad (3)$$

$$\frac{dV_L}{dt} = S_L - (c_L + k_{BL} + k_{LF})V_L + k_{BL}V_B + k_{FL}V_F \quad (4)$$

$$\frac{dV_F}{dt} = -(c_F + k_{FL})V_F + k_{LF}V_L \quad (5)$$

Los parámetros involucrados en las ecuaciones de este modelo se determinaron de acuerdo con distintos experimentos y estudios clínicos reportados en diferentes artículos [2] y acotando los parámetros resolviendo las ecuaciones estacionarias. Se sabe que la tasa de muerte en las FDC's es muy pequeña por lo que se considera que  $c_F \approx 0$  [2]. También se sabe que es muy poco eficiente el tránsito del virus de la sangre a la linfa a través de las vénulas endoteliales altas (HEVs) por lo que se puede considerar que  $k_{BL} \approx 0$  [2]. También puede considerarse la transferencia a la linfa como parte de la tasa de desaparición del virus. Los experimentos indican que  $c_B \approx 3 \sim 40 \text{ d}^{-1}$ ,  $\delta_1 \approx 0.5 \text{ d}^{-1}$ ,  $N \approx 10^2$ , mientras que  $T_B^*(0)/T_B(0) \approx 10^{-4}$ . Las soluciones para un instante dado o solución estacionaria, de las ecuaciones del virus en los diferentes compartimientos son las siguientes:

$$V_B(0) = \frac{S_B(0) + k_{LB}V_L(0)}{\bar{c}_B} \quad (6)$$

$$V_L(0) = \frac{S_L(0) + k_{FL} V_F(0)}{\bar{c}_L} \quad (7)$$

$$V_F(0) = \frac{k_{LF}}{k_{FL}} V_L(0) \quad (8)$$

Se puede revisar la importancia relativa de los parámetros involucrados en la carga viral medida en plasma sanguíneo [2] quitando el parámetro de pendiente del virus en tejido linfático. Si esto se hace [2] se observa que las fuentes  $S_B$  del plasma contribuyen en menos de un 1% en el número de partículas del virus detectadas en el plasma de pacientes infectados, lo que es equivalente a escribir que  $S_B(0) \approx 0$  en la ecuación 6.

$$V_B(0) = \left( \frac{k_{LB}}{c_B} \right) V_L(0) \quad , \quad (9)$$

por lo tanto, la principal contribución a la carga viral en sangre proviene del virus trasferido desde LT-IS. En mediciones clínicas [2] la proporción de virus en sangre es  $V_B(0)/V_L(0) \approx 10^{-2}$ . Si se toma en cuenta que existe mucho mayor virus en el tejido linfático, una pequeña variación en los coeficientes cinéticos ( $k_{LB}$  o  $c_B$ ) producirá grandes variaciones en la carga viral en BP, que no necesariamente refleja el estado global de la infección en el resto de los compartimentos. Se sabe que  $k_{LB}$  debe ser relativamente pequeño [2]. Empleando que  $V_B(0)/V_L(0) \approx 10^{-2}$  y que  $c_B \approx 3 \sim 40 \text{ d}^{-1}$ , se obtiene que  $k_{LB} \approx 0.1 \text{ d}^{-1}$ .

Una alternativa para resolver las ecuaciones del modelo es escribir una ecuación para todos los linfocitos infectados. Ya que la proporción de linfocitos en el tejido linfático es  $V_B(0)/V_L(0) \approx 10^{-2}$  se puede aproximar la ecuación tomando sólo en cuenta la contribución de los linfocitos infectados en tejido linfático. En la ecuación 10 se observa como el cambio en el número de linfocitos infectados depende principalmente de los linfocitos que se infecten en linfa los cuales se infectan con tasa  $k_T$  mientras existan linfocitos no infectados disponibles en dicho compartimento (de ahí el término logístico  $1 - T^*/T$ ). A su vez el número de infectados disminuye con la tasa promedio de decaimiento de los linfocitos infectados  $\delta_1$ .

$$\frac{dT^*}{dt} = k_T V_L T_L \left( 1 - \frac{T^*}{T} \right) - \delta_1 T^* \quad (10)$$

La ecuación que describe el cambio en el número de linfocitos no infectados en plasma muestra que el número de linfocitos no infectados en plasma sanguíneo depende de la producción de nuevas células vírgenes en timo ( $\Gamma$ ), de la tasa de infección  $k_T$ , y de la tasa promedio de decaimiento de los linfocitos no infectados  $\mu_T$ .

$$\frac{dT}{dt} = \Gamma - k_T V_L T_L - \mu_T T_L \quad (11)$$

Resolviendo (empleando el paquete computacional ©Mathematica) simultáneamente de manera numérica y empleando los parámetros adecuados las ecuaciones 6,7,8,10,11 se obtiene ala carga viral en los tres compartimentos virales para el estado estacionario o asintomático del virus. La figura 6.32 muestra la solución para  $V_B(t)$ ,  $V_L(t)$ ,  $V_F(t)$  respectivamente. Se observa que al inicio la carga viral sube en los tres compartimentos y luego se estabiliza en un valor más bajo. También resalta el hecho de que el valor de la carga viral es alto, la carga viral tanto en tejido linfático como en células foliculares dendríticas es aún mayor. Si se compara la Fig. 6.32 con la Fig 6.33 se ve una clara similitud en el comportamiento de la carga viral medida en sangre desde el inició hasta la etapa asintomática de la enfermedad. Cabe mencionar que no es

posible simular con el modelo propuesto el la abrupta elevación de la carga viral cuando aparece propiamente la enfermedad como tal.

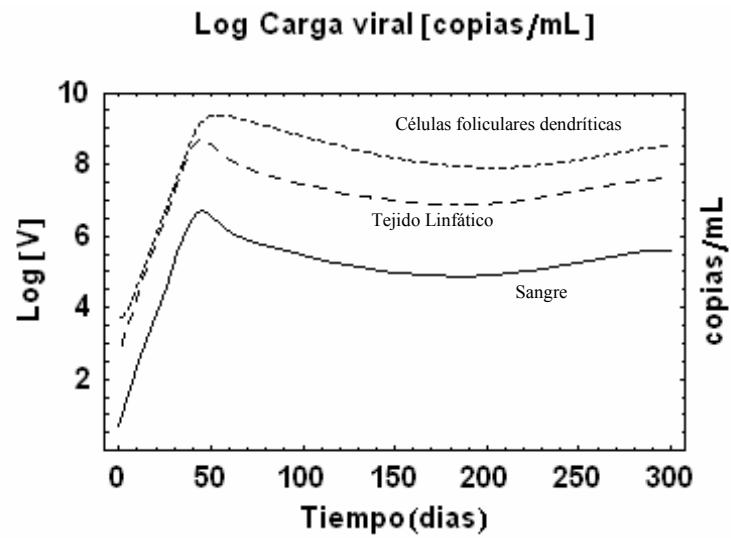


Fig. 6.32 Evolución de la carga viral durante 300 días después de la infección en tres diferentes compartimentos. Línea continua: sangre, línea punteada: tejido linfático, línea doblemente punteada: células foliculares dendríticas.

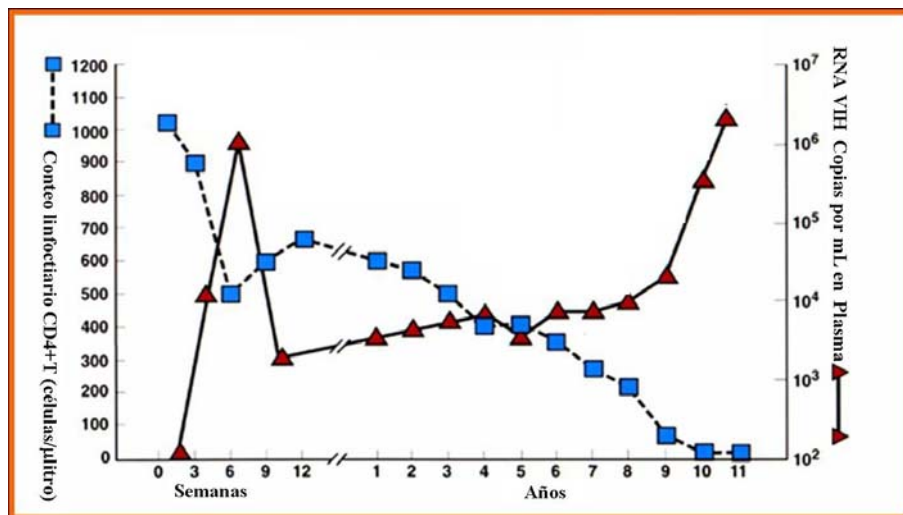


Fig. 6.33 Evolución de la carga viral en plasma sanguíneo y el conteo linfocitario reportados en la bibliografía [ 29] de acuerdo con datos clínicos.

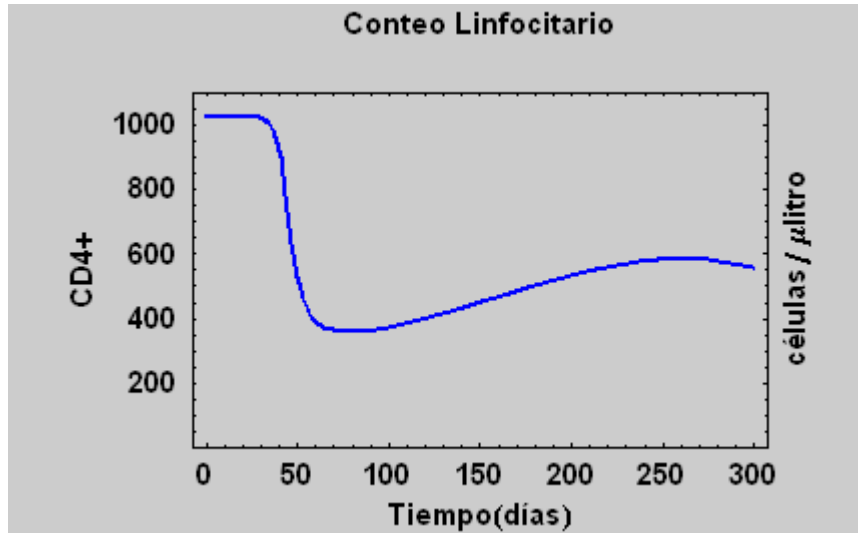


Fig. 6.34 Evolución del conteo linfocitario durante 300 días después de la infección en plasma sanguíneo

En la figura 6.34 se observa la solución para el número de linfocitos totales en sangre los cuales se calculan sumando la solución de las ecuaciones para los linfocitos infectados y no infectados ya que la prueba de conteo linfocitario medida en plasma no distingue ambas categorías. Además se sabe que únicamente aproximadamente el 2% de los linfocitos totales se encuentran en la sangre. Así pues el número de linfocitos medido en plasma sanguíneo se puede definir de acuerdo a la ecuación 12.

$$T_B = 0.02 (T^* + T) \quad (12)$$

Comparando la evolución del conteo linfocitario en las Fig. 6.33 y 6.34 se observa que el modelo predice en cierto grado la oscilación observada en pacientes.

Otra de las grandes utilidades del modelo es la capacidad de modelar la respuesta de los pacientes que se encuentran bajo terapia antirretroviral. Para modelar la terapia se puede suponer que si ésta es totalmente efectiva la tasa de infección de los linfocitos  $k_T$  es igual a cero o bien al porcentaje correspondiente a la efectividad del virus.

Las soluciones del modelo de tres compartimentos se han comparado con anterioridad [2] con datos clínicos reportados de carga viral en el plasma de pacientes sujetos a monoterapia,

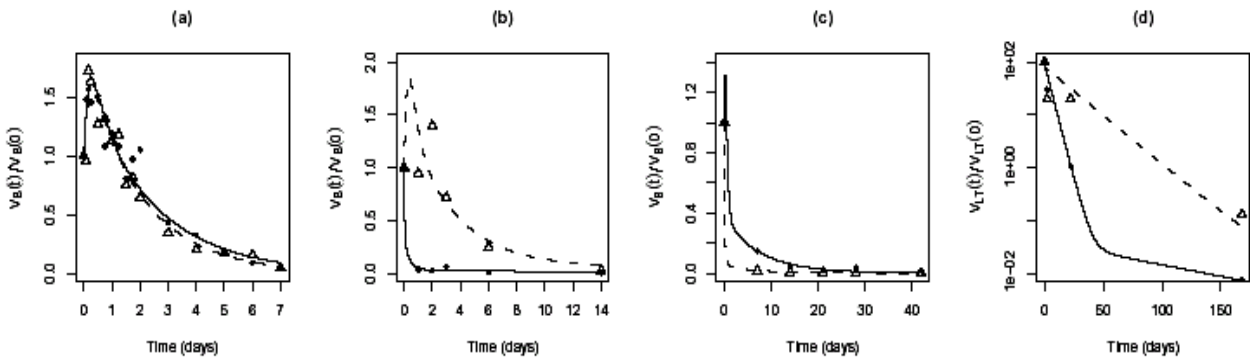


Fig. 6.35 Comparación del modelo con datos clínicos de pacientes infectados sujetos a terapia[2]  
(a), (b) y (c): evolución de carga viral en plasma hasta 7, 14 y 42 días después del inicio del tratamiento. (d): evolución de carga viral en ganglios linfáticos hasta 6 meses después del inicio de la terapia.

El modelo resulta robusto y capaz de predecir la dinámica viral con y sin terapia, en diferentes compartimentos y en diferentes escalas de tiempo (Fig. 6.35). Una implicación importante de la ecuación estacionaria para la carga viral medida en sangre (ecuación 9), es el

hecho de que si en efecto en un instante dado, durante el periodo asintomático en pacientes sin tratamiento, existen diferencias en la carga viral medida en sangre  $V_B$  de hombres y mujeres, estas diferencias sólo pueden deberse a diferencias en los coeficientes cinéticos entre ambos sexos ( $k_{LB}$  o  $c_B$ ) o a diferentes números de virus en linfa  $V_L$ . Si consideramos el hecho de que ambos sexos progresan en tiempos similares a la enfermedad [1] podemos suponer que pese a que ambos tienen diferente carga viral en plasma sanguíneo, en tejido linfático la carga viral puede ser similar, de manera que si la dinámica en el tejido linfático domina la dinámica viral esto puede por lo tanto reflejarse en una similar progresión a la enfermedad. Si aceptamos esta hipótesis como cierta ( $V_{LM} = V_{LH}$ ) entonces las diferencias en el plasma sanguíneo de hombres y mujeres de acuerdo con el modelo tricompartmental sólo pueden deberse a los coeficientes cinéticos es decir a diferencias ya sea en la tasa de transferencia o a la tasa de desaparición intrínseca del virus en sangre o bien al cociente de ambas.

$$\frac{V_{BM}}{V_{BH}} = \frac{(k_{LBM}/c_{BM}) V_{LM}}{(k_{LBH}/c_{BH}) V_{LH}} = \frac{k'_{LBM}}{k'_{LBH}} \quad (13)$$

La ecuación 13 muestra como la razón del virus en sangre de las mujeres ( $V_{BM}$ ) respecto del virus en la sangre de los hombres ( $V_{BH}$ ), puede igualarse a la razón entre las tasas primadas  $k'_{LB}$  para las mujeres respecto de los hombres, donde cada una de estas tasas representa el cociente de la tasa de transferencia entre la tasa de desaparición del virus en sangre para cada sexo.

Una manera de ver como se comportarían la carga viral de pacientes con diferentes tasas de transferencia es resolver las ecuaciones del modelo para cada sexo por separado empleando para cada grupo su tasa de transferencia  $k_{LB}$  correspondiente. Resulta además relevante cuál será la dinámica para el caso de los pacientes tratados. Una primera aproximación es realizar un cálculo aproximado de la razón  $k'_{LBM}/k'_{LBH}$ , calculando la razón  $V_{BM}/V_{BH}$  de nuestra base de datos (Cuadro 6.26). Dado que la carga viral, como se vio en los resultados, cambia principalmente con el conteo linfocitario, dicho cociente puede aproximarse como una función del conteo linfocitario en sangre  $T_B$ . Para ello se puede realizar una regresión lineal del cociente de las medias de la carga viral para hombres y mujeres.

Pacientes sin tratamiento		Carga Viral (copias/mL)		
CD4 (Categorizada)	Sexo	Media	N	CVM/CVH
<=50	Masculino	347,074.5619	105	0.978448
	Femenino	339,594.5833	24	
51-200	Masculino	302,191.9313	160	0.78365
	Femenino	236,812.6923	26	
201-350	Masculino	162,001.5755	139	0.337855
	Femenino	54,733.0769	26	
351-500	Masculino	104,064.5950	121	0.585057
	Femenino	60,883.7308	26	
>500	Masculino	63,113.6480	125	0.376035
	Femenino	23,732.9545	22	

**Cuadro 6.36 Cociente de las medias de carga viral de mujeres entre la medias de carga viral de hombres para cada intervalo de conteo linfocitario.**

Se graficó el cociente en función del conteo linfocitario y para mejorar el coeficiente de correlación  $r^2$  se ajustó una recta para el cociente de la carga viral para los intervalos mayores a 200 células/microlitro (Fig.6.36). Esto debido a que se planeó posteriormente simular comparativamente las diferencias en la carga viral de hombres y mujeres que se encuentran en



pacientes con y sin tratamiento y es en estos intervalos de conteo linfocitario donde los pacientes inician su tratamiento.

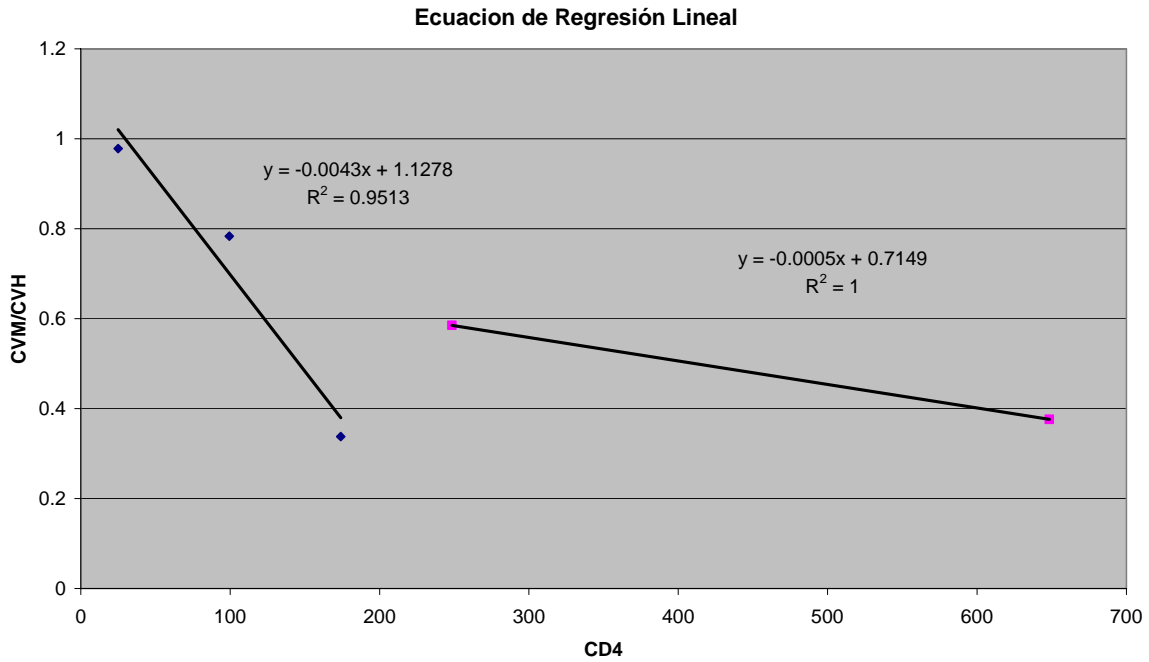


Fig. 6.36 Ajuste de regresión lineal del cociente  $V_{BM}/V_{BH}$  como función del conteo linfocitario, para dos intervalos empleando como punto de corte 200 células/microlitro

Como no sabemos qué tanto de la variación de las  $k'_{LB}$  es de los hombres y qué tanto de las mujeres, como una primera aproximación podemos suponer que uno es constante y el otro es responsable de toda la variación. Debido a que se cree que puede haber un componente hormonal asociado, y siendo las mujeres la población que presenta la mayor variabilidad al respecto, se eligió a las mujeres como portadoras la variación encontrada en las tasa de transferencia primadas  $k'_{LB}$  entre ambos géneros. Así pues para la  $k'_{LBH}$  se decidió mantener como se propone en un inicio el valor de la  $k'_{LB}$  [2]. Y para la  $k'_{LBM}$  decidió emplearse la ecuación 14.

$$k'_{LBM} = k'_{LBH} (-0.0005 (T_{BM}) + 0.71) \quad (14)$$

Podemos entonces comparar la solución de las ecuaciones con la tasa de transferencia primada original  $k'_{LB}$  que ahora corresponderá a la solución para los hombres, resolver las ecuaciones empleando la nueva tasa  $k'_{LBM}$  que corresponderá a la solución para las mujeres, y comparar ambas dinámicas en el tiempo. Como las ecuaciones resuelven la función de la carga viral como función del tiempo, es conveniente expresar el número de linfocitos como una función lineal del tiempo [28] como se muestra en la ecuación 15.

$$k'_{LBM} = k'_{LBH} (-0.0005 (1100 - 0.136 t) + 0.71) \quad (15)$$

$$k'_{LBH} = .23 d^{-1} \quad (16)$$

$$k'_{LBM} = 0.036 + 0.00001564 t \quad (17)$$

Como de nueva cuenta no se sabe qué tanto de la diferencia del las  $k'_{LB}$  se debe a la tasa de transferencia y qué tanto a la tasa de desaparición del virus (ecuación 13) y ambas explicaciones son igualmente probables, se pueden realizar simulaciones atribuyendo la variación indistintamente a uno u otro parámetro. Si se comparan las ecuaciones 16 y 17 que

representan a los coeficientes cinéticos para hombres y mujeres respectivamente se observa que si se atribuye la variación del coeficiente a la transferencia del virus de la linfa a la sangre, estaríamos bajo la suposición de que las mujeres tienen una menor transferencia entre dichos compartimentos. Por otro lado si atribuimos la variación a la tasa de eliminación o desaparición del virus se maneja la suposición de que las mujeres tienen una mayor tasa de eliminación o desaparición del virus.

Si resolvemos numéricamente las ecuaciones del modelo de acuerdo con los supuestos previos, y graficamos la solución para el virus en plasma  $V_B(t)$  se observa que en efecto, y de acuerdo con la ecuación 9, la variación en los coeficientes cinéticos se refleja en diferencias en la carga viral entre hombres y mujeres, pudiendo simular así una mayor carga para los hombres como se muestra en la Fig. 6.37.

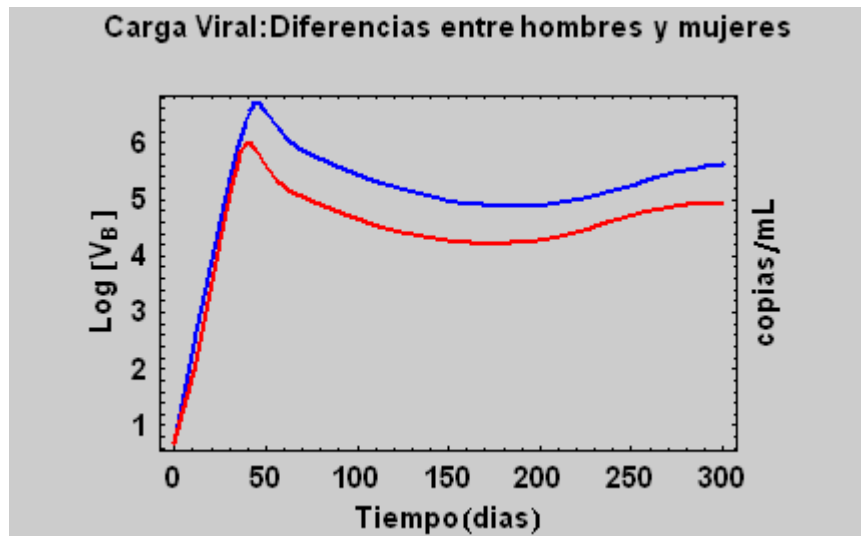


Fig. 6.37 Gráfica de la evolución de la carga viral medida en plasma de acuerdo con la solución numérica de las ecuaciones del modelo empleando diferentes tasas de transferencia entre hombres (azul) y mujeres (rojo).

Se graficó la solución para la carga viral en sangre en el espacio fase (Fig. 6.38), es decir, graficando la carga viral contra el conteo linfocitario, y se observó que los atractores para cada sexo llegan al equilibrio en el estado asintomático de la enfermedad en puntos diferentes. Así pues en la etapa asintomática los hombres tendrán de acuerdo con el modelo planteado una mayor carga viral que las mujeres y un mayor conteo linfocitario. Cuando se comparan los valores de la carga viral para valores equivalentes de conteo linfocitario entre ambos sexos, es claro que los hombres tendrán una mayor carga viral que las mujeres para la mayoría de los casos.

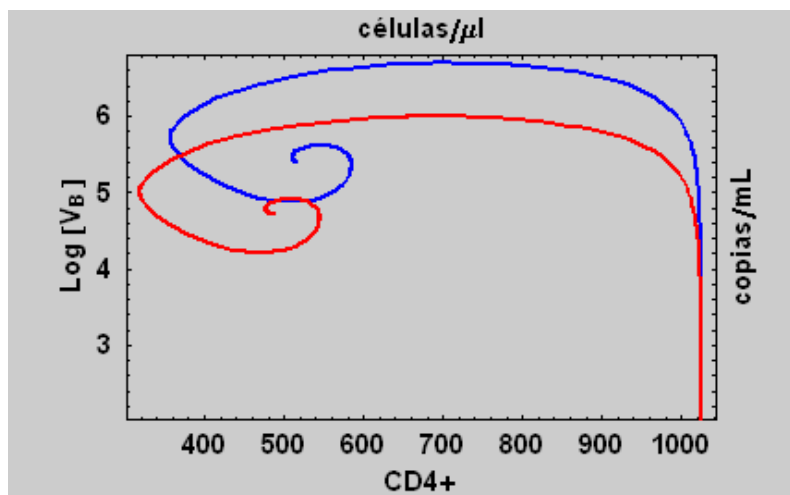


Fig. 6.38 Atractores en el espacio fase de la evolución de la carga viral medida en plasma de empleando diferentes tasas de transferencia entre hombres (azul) y mujeres (rojo).

Se repitió (no mostrada) la simulación resolviendo las ecuaciones asociando las diferencias de la  $k_{LB}$  a posibles diferencias en la tasa de desaparición del virus, al ser un caso el inverso del otro, desde luego se obtuvieron exactamente los mismos resultados.

Como con anterioridad en los resultados se observó que la diferencia entre ambos sexos disminuye con el tratamiento antirretroviral (Sección 6.7) resulta interesante determinar como se comportará la solución de las ecuaciones para ambos sexos bajo la simulación de la terapia. Se puede simular una terapia 100% efectiva haciendo que la infectividad del virus sea nula  $k_T = 0$ .

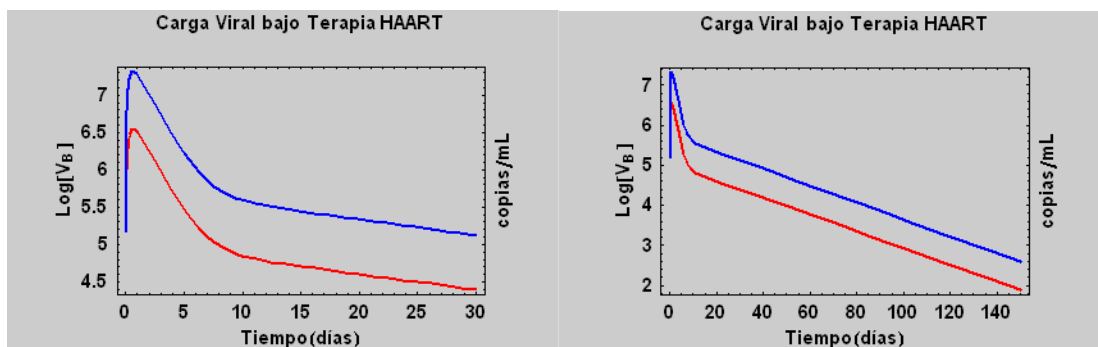


Fig. 6.39 Simulación matemática cambiando las tasas de transferencia de linfa a sangre entre hombres (azul) y mujeres (rojo) para diferentes escalas de tiempo y suponiendo una efectividad del 100% para la terapia.

En la Fig. 6.39 se muestra la solución de las ecuaciones del modelos simulando una terapia antirretroviral 100% efectiva. Resalta el hecho de que a lo largo de la progresión temporal de la carga viral se sigue observando una mayor carga viral en los hombres respecto de las mujeres, cosa que no se observa para el caso de nuestra base de datos de pacientes bajo tratamiento, donde la diferencia entre ambos sexos disminuye. Dado que se encontró previamente un porcentaje de probable falla virológica del 35% esto puede simularse de cierta manera disminuyendo la efectividad de la terapia. Se pueden simular las soluciones para diferentes efectividades de la terapia simplemente multiplicando la infectividad del virus por un factor  $(1-n)$  donde  $n$  es el equivalente al porcentaje de efectividad del virus (ecuaciones 18 y 19).

$$\frac{dT^*}{dt} = (1-n)k_T V_L T_L \left(1 - \frac{T^*}{T}\right) - \delta_1 T^* \quad (18)$$

$$\frac{dT}{dt} = \Gamma - (1-n)k_T V_L T_L - \mu_T T_L \quad (19)$$

Tomando en cuenta una efectividad del 60% ( $n=6$ ) de la terapia se obtuvieron las soluciones mostradas en la Fig. 6.40. Se observa que si la terapia en ambos sexos no es del todo efectiva a largo plazo las diferencias en la carga viral parecen disminuir con el tiempo. Esto nos indica que la efectividad de la terapia en términos del modelo es una alternativa explicativa a las variaciones encontradas en las diferencias después del tratamiento antirretroviral.

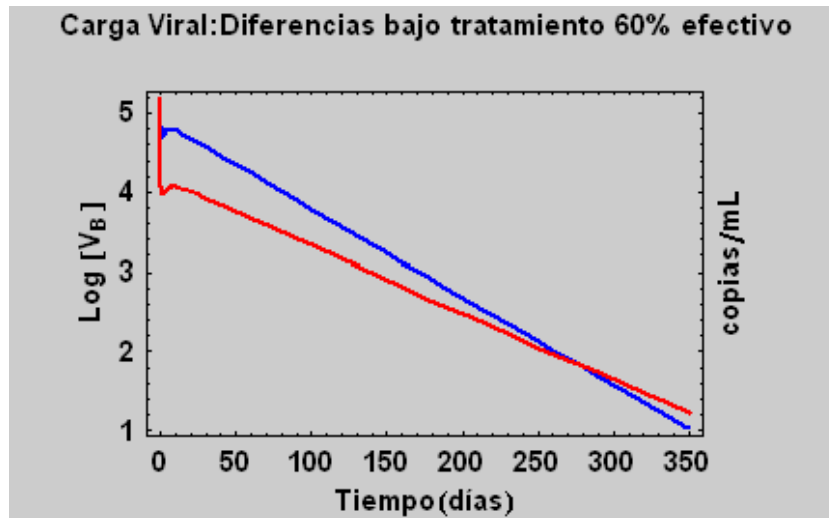


Fig. 6.40 Simulación matemática cambiando las tasas de transferencia de linfa a sangre entre hombres (azul) y mujeres (rojo) para diferentes escalas de tiempo y suponiendo una efectividad del 60% para la terapia.

## VII DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 7.1 La controversia

En los resultados obtenidos es relevante el hecho de que cuando se analizó la población en su conjunto (tratados y no tratados) es difícil distinguir diferencias en la carga viral de hombres y mujeres. Dado que los niveles de carga viral pueden estar relacionados con muchas variables en especial con la respuesta de cada paciente al tratamiento, es claro que el no considerar la información del tratamiento limita considerablemente los resultados del análisis. Esto puede explicar la controversia generada por ciertos reportes previamente publicados en donde aparentemente no se observan diferencias en la carga viral de hombres y mujeres, en los que a su vez no se consideró el factor del tratamiento [13,14]. En los resultados obtenidos, pese a que la correlación entre el sexo y la carga viral es significativa estadísticamente para el caso de los pacientes sin tratamiento (Sig = .008) es de magnitud muy baja ( $r=.09$ ) lo cual nos indica que existen muchas otras variables clínicas que determinan el valor de la carga viral.

En este estudio, una vez separada la población se observan claras diferencias en la carga viral de hombres y mujeres, donde los hombres tienen en promedio 30% más carga viral que su contraparte. Los hombres tienen mayor carga viral que las mujeres para conteos linfocitarios altos y dicha diferencia es estadísticamente significativa para el intervalo de 201-350 células/microlitro donde los hombres tienen en promedio tres veces más carga viral que las mujeres. Al parecer la tendencia se invierte para conteos menores a las 50 células/microlitro. Todos estos resultados son consistentes con resultados reportados con anterioridad en otros países [15].

En cuanto al efecto de la edad, para el caso de los pacientes sin tratamiento se observó consistentemente una carga viral para los hombres por arriba de las mujeres aún para el caso de pacientes mayores de 55 años de edad. Sin embargo en los pacientes bajo tratamiento la carga viral parece disminuir con la edad tanto para hombres como para mujeres. Al parecer la carga viral se ve influenciada por el tratamiento, la edad y el conteo linfocitario en ambos sexos, en algunos casos de manera similar y en otros de maneras muy distintas.

En la sección 6.11 se determinó que la relación entre el conteo linfocitario y la carga viral tienen una mayor correlación negativa para el caso de las mujeres lo cual es un indicador claro de las diferencias existentes entre ambos sexos en la dinámica de la infección y en la respuesta del organismo. Para tratar de comprender el porqué de los resultados observados podemos retomar los resultados del modelo tricompartmental en el que se lograron simular las diferencias observadas. A continuación se intentará proponer una explicación viable a los comportamientos observados.

### 7.2 El endotelio

En la sección 6.14 y de acuerdo con la ecuación estacionaria 9 del modelo de tres compartimentos, las diferencias en los coeficientes cinéticos (tasas de transferencia entre linfa y sangre  $k_{LB}$  y tasas de eliminación o desaparición del virus en sangre  $c_B$ ) pudieran estar relacionadas con las diferencias observadas en la carga viral de hombres y mujeres. Sin embargo es necesario establecer una relación entre los coeficientes cinéticos con los parámetros clínicos y/o aspectos biológicos propios de los pacientes, de tal manera que las diferencias en los coeficientes cinéticos puedan explicarse en términos de diferencias biológicas concretas entre hombres y mujeres. Como se comentará más adelante, las tasas de transferencia y eliminación del virus pueden estar relacionadas con la función endotelial.

## 7.2.1 Las células endoteliales, el VIH y los coeficientes cinéticos

Ante la pregunta de si existe biológicamente algo que pudiera estar relacionado con la transferencia y eliminación del virus VIH-1 y además presentar variaciones entre ambos sexos, la función endotelial parece representar una respuesta viable.

El endotelio vascular es una monocapa de células endoteliales que recubre y delimita el lumen de los vasos sanguíneos, constituyendo una barrera entre los tejidos circundantes y la sangre circulante [30]. Las células endoteliales a su vez funcionan de manera selectiva regulando y facilitando el paso bidireccional de macromoléculas y gases entre los tejidos y la sangre [30]. La localización estratégica del endotelio le permite sentir los cambios en las fuerzas hemodinámicas y gracias a la transducción de las señales que recibe del flujo sanguíneo puede liberar cierto número de sustancias. El balance en la liberación de estos factores bioactivos facilita la homeostasis vascular. Cuando se altera la capacidad de las células endoteliales para mantener la homeostasis esto puede desencadenar procesos inflamatorios patológicos y enfermedades vasculares [30]. El endotelio, como barrera entre la sangre y los tejidos, contribuye en la reología sanguínea gracias a sus funciones anti-trombóticas y profibrinolíticas, transportando los nutrientes a los tejidos y removiendo los desechos de los tejidos y participando en el tráfico de las células sanguíneas [31]. Fuerzas físicas, alteraciones en las redes de mediadores solubles o en la concentración de los metabolitos, defectos enzimáticos o huéspedes extraños pueden inducir perturbaciones en las células endoteliales y provocar cambios en su programa genético. Si esto ocurre, las células endoteliales adquieren un fenotipo pro-inflamatorio y participan activamente en la respuesta inmune asumiendo propiedades de las células presentadoras de antígeno y permitiendo la migración de los linfocitos a los tejidos dañados [31]. La activación de las células endoteliales puede aumentar su tasa de proliferación y generar nuevos vasos durante, por ejemplo, la reparación de tejidos o enfermedades crónicas inflamatorias [31].

Las células endoteliales también regulan el tráfico de los linfocitos en el organismo. Además del sistema de circulación sanguínea, los seres humanos han desarrollado un segundo sistema circulatorio, conocido como red linfática, que regresa el fluido linfático y las proteínas extravasculares a la sangre [32]. El intercambio de los linfocitos entre la sangre y el tejido linfático ocurre cerca de 50 veces al día, de tal forma que solo una pequeña fracción de la población total de linfocitos T se encuentra en la sangre en un instante dado (2%) [33].

El tráfico de los linfocitos requiere que éstos realicen con éxito su tránsito al tejido extravascular y que ingresen a la linfa mediante migración transendotelial. [32] En los humanos los ganglios linfáticos constituyen cadenas donde la linfa sale por el canal eferente de uno y puede entrar por el canal aferente del otro (Fig. 7.2). La mayoría de los linfocitos que abandonan los ganglios circulan al igual que la linfa y regresan a la sangre por el conducto linfático torácico el cual se vacía en el sistema venoso en la unión de la vena yugular y la subclavia [32].

Los linfocitos entran a los ganglios linfáticos por dos rutas, una de ellas es la circulación mediante la linfa circulante que entra por el conducto aferente. La otra ruta, que es más común en la circulación de los linfocitos, es vía las vénulas post-capilares de la sangre, gracias a las células endoteliales que residen en dicha vénulas. Dichas células endoteliales, a diferencia de otras células endoteliales, presentan una morfología cúbica y expresan en su superficie ciertas moléculas de adhesión que facilitan la adhesión de los linfocitos y su migración. Este tipo de endotelio se conoce como vénulas endoteliales altas. [32]

Una vez que los linfocitos entran a un ganglio linfático, ya sea vía la linfa aferente o vía las vénulas endoteliales altas, la migración a los tejidos se da a través del proceso conocido

como ecotaxis. Se cree que las quimiocinas tienen un rol preponderante en dicha migración. Por otro lado la principal vía por la que los linfocitos también pueden dejar un ganglio es a través de la vía linfática eferente [32]. Al parecer la salida de los linfocitos de los ganglios linfáticos es un proceso regulado probablemente por señales en el endotelio. Las vías linfáticas al igual que los vasos sanguíneos, se recubren de células endoteliales, que han demostrado ser muy similares en todo a las células endoteliales de las vías sanguíneas. Se cree que las células endoteliales linfáticas regulan activamente la salida de los linfocitos[32].

El endotelio además secreta diferentes factores entre ellos el óxido nítrico que promueve la retracción y pérdida de adhesión entre unas células y otras, generando así la vasodilatación ante estímulos. Existen diferentes técnicas que permiten evaluar la capacidad del endotelio vascular, que dependen principalmente de la cantidad de óxido nítrico (NO) producido y su efecto vasodilatador. El porcentaje de vasodilatación con respecto del valor basal representa en cierta forma la capacidad funcional del endotelio. Tomando en cuenta que el esfuerzo cortante es uno de los estímulos más importantes para la síntesis y liberación de NO, la técnica no invasiva más usada en la actualidad se basa en la vasodilatación transiente post-isquemia endotelio-dependiente en respuesta al flujo (*FMD: flow mediated dilatation*), medida en arterias como la braquial, radial o femoral. Esta vasodilatación se compara con la producida por fármacos donadores de NO, como la nitroglicerina, llamada vasodilatación endotelio-independiente. La vasodilatación es cuantificada midiendo el diámetro arterial con ultrasonografía de alta resolución[34].

También existen otros factores medibles relacionados con la función endotelial, como por ejemplo las moléculas de adhesión circulantes, sustancias proartherogénicas, antifibrinolíticos, evaluación de marcadores de inflamación, etc[35]. Todos son marcadores directos o indirectos de la capacidad del endotelio para proteger el sistema vascular de futuras lesiones o evitar que lesiones existentes desencadenen un evento vascular desfavorable.

En la actualidad se sabe que el virus de inmunodeficiencia humana causa severos desordenes vasculares mediante la activación y perturbación de las células endoteliales. Esto puede incluir vasculitis en diversos órganos, particularmente en el sistema nervioso central y periférico e infiltración de proteínas a través de la barrera hematoencefálica [31]. Evidencias recientes han mostrado severas alteraciones morfológicas del endotelio aórtico en pacientes infectados, relacionados con la activación y un incremento en la adhesión de células mononucleares al endotelio [31]. Otro síntoma relacionado con la infección cuando se presenta la enfermedad y que está asociado con vasculopatía es el sarcoma de Kaposi, que consta de tumores que se acompañan de activación y proliferación de células endoteliales [31]. Así mismo se ha encontrado que el endotelio vascular de algunos sectores puede llegar a infectarse y llegar a constituir un reservorio viral o bien facilitar la diseminación de la infección a otros tejidos [31].

Las células endoteliales también participan en regulación del paso de los linfocitos infectados a los órganos linfoides [31]. El tráfico de los linfocitos entre el plasma y el tejido linfático ha mostrado ser de vital importancia en la infección por el VIH. [27] Se sabe que la proteína de envoltura gp120 es capaz de activar la apoptosis en células endoteliales de grandes vasos y cambios en la barrera funcional de la monocapa microvascular de células endoteliales aumentando la vasopermeabilidad a proteínas.[36]

En pacientes infectados por el VIH-1 existe evidencia de aumento en el riesgo de enfermedades cardiovasculares[36]. También se ha encontrado que la vasodilatación medida mediante FMD empeora en los pacientes infectados por el VIH en relación a controles.[37] En modelo de SIDA murino, se ha demostrado el desarrollo de una vasculopatía funcional relacionada con estrés oxidativo y activación endotelial específica[38]. Tanto en animales como en humanos, la progresión de la infección se caracteriza por una activación inmune inicial en respuesta al patógeno, que pudiera tener un papel central en las complicaciones cardiovasculares

observadas *in vivo*. Los datos sugieren que existe una disminución en el abastecimiento de NO en el endotelio antes de que se presente la inmunodeficiencia.[38] También se ha observado que en niños infectados por el VIH la dilatación endotelio-dependiente fue menor con respecto a los controles [39].

De todo lo anterior podemos concluir que las células endoteliales pueden estar muy relacionadas con la dinámica de la infección por el VIH y a su vez con los coeficientes cinéticos posiblemente involucrados en las diferencias de género previamente encontradas, ya que participan en la transferencia entre tejido linfático y sangre, y pudieran participar incluso en la eliminación del virus ya sea a través de óxido nítrico, adhesión o migración a los tejidos. Además existen diversas formas clínicas de evaluar la función endotelial. Por consiguiente resta determinar si se han reportado diferencias en el endotelio de hombres y mujeres, o variaciones asociadas a la edad que pudieran ofrecer una alternativa explicativa a las variaciones en los coeficientes cinéticos que a su vez aporten elementos en el entendimiento de las diferencias encontradas. El hecho de que la infección por el VIH cambie las propiedades del endotelio en especial cuando comienzan los síntomas de la enfermedad puede explicar el hecho de que las diferencias entre la carga viral de hombres y mujeres no tratados cambian para el caso de pacientes con conteos linfocitarios bajos donde la enfermedad es altamente probable.

### 7.2.2 La función endotelial, el género y la edad

¿Es la función endotelial diferente entre hombres y mujeres? Se sabe que la incidencia de enfermedades coronarias en mujeres de todas las edades es menor que en los hombres pero que aumenta después de la menopausia, cuando la secreción de hormonas sexuales es menor. También existen evidencias de la acción de las hormonas sexuales femeninas en el sistema cardiovascular, que incluye efectos en los niveles de lípidos en plasma y acciones directas e indirectas en la fisiología de la pared vascular[40]. Además existen efectos cardiovasculares, a lo largo del ciclo menstrual, debidos a la fluctuación natural de hormonas, y muchos factores circulantes como la óxido nítrico sintetasa, el factor de crecimiento del endotelio vascular, y P-selectina han demostrado una variación cíclica. El estrógeno es activo tanto es el músculo vascular liso como en las células endoteliales donde se ha observado que existen receptores de estrógeno funcionales. La administración de estrógeno promueve la vasodilatación en humanos y modelos animales, estimulando la síntesis de prostaciclina y ácido nítrico, así como disminuyendo la producción de agentes vasoconstrictores como los productos derivados de la ciclo-oxigenas, especies reactivas de oxígeno, angiotensina II, y endotelina I[40]. También se han observado variaciones en la función endotelial medida a través de la dilatación (FMD) que se presentan a lo largo del ciclo menstrual[41].

Por otro lado se han descrito diferencias de género en el tono vascular (el cual depende de la contracción del músculo liso y del endotelio) donde la contracción puede ser hasta el doble en los pacientes femeninos respecto a los masculinos. El tono vascular también parece estar relacionado con el diámetro de los vasos sanguíneos [42]. Se cree que esto pudiera estar relacionado al efecto de las hormonas sexuales mediante la interacción con receptores específicos para hormonas encontrados en la vasculatura[42]. A sí mismo, la sensibilidad del endotelio a hormonas se ha relacionado con el hecho de una mayor hipertensión en hombres y mujeres postmenopáusicas en comparación con mujeres premenopáusicas[43]. También se asocia una mejor liberación de óxido nítrico NO en las mujeres respecto de los hombres, con la interacción de los estrógenos y las células endoteliales [43]. La testosterona por otro lado parece tener un efecto beneficioso en el diámetro vascular [43].

Los anteriores hechos podrían estar relacionados con el hecho de que los hombres tengan mayor carga viral que las mujeres en la edad reproductiva ya que las hormonas pudieran estar generando diferencias en las tasas de transferencia y eliminación del virus. Sin embargo, regresando a los resultados de este trabajo, se observó que aún para edades después de los 55



años de edad, cuando los niveles de estrógeno en la mujer disminuyen y el ambiente hormonal entre hombres y mujeres se asemeja más, las mujeres siguen teniendo menor carga viral que los hombres por lo que, aunque la diferencia pudiera ser sensible a hormonas, la pregunta sería que diferencias existen en el endotelio tanto linfático como vascular entre los hombres y mujeres independientemente del ambiente hormonal. No existe mucha información al respecto, sin embargo se ha reportado que las mujeres tienen un menor diámetro en vasos sanguíneos que los hombres, sin embargo, el diámetro de sus vasos sanguíneos no cambia considerablemente después de la menopausia [44]. También se observó una mejor dilatación en los vasos cuanto menor es el diámetro de los mismos [45].

Por lo que se refiere al efecto de la edad, en los resultados previamente reportados (Sección 6.9) se encontró relativamente una menor carga viral medida en plasma para el caso de los pacientes mayores de 55 años bajo tratamiento antirretroviral tanto en hombres como en mujeres. Un estudio realizado en pacientes mayores de 50 años, tratados y no tratados, encontró una correlación entre mayor edad y menores cargas virales [46]. Por otro lado se ha reportado que la carga viral en niños recién nacidos es menor que en las niñas, continúan así hasta después de cumplir los 4 años, cuando las niñas presentan menor carga viral que los niños [47]. Sin embargo ambos, niños y niñas, progresan a la misma velocidad a la infección severa y la muerte.[47] En los niños tratados de igual manera la diferencia entre en la carga viral de ambos sexos disminuyó[47]. Se cree que incluso las ligeras variaciones en niveles hormonales de niños y niñas en la pre-pubertad pudieran estar causando las diferencias encontradas[47]. Es importante recordar que el análisis de nuestros casos pediátricos no pudo realizarse por separado en grupos de niños sin y con tratamiento debido a la falta de casos en cada subgrupo. Sin embargo todos estos estudios previamente mencionados son consistentes con los resultados encontrados correlacionando en primera instancia con una menor carga viral encontrada en pacientes mayores tratados en general; también nuestros resultados de las diferencias de género encontradas en el grupo de pacientes mayores correlacionan con las diferencias descritas en niños, es decir aun cuando los pacientes no se encuentran propiamente en la edad reproductiva; así mismo también en nuestro estudio se encontró, al igual que en los niños previamente mencionados, una disminución de las diferencias de género en la carga viral para el caso de los pacientes bajo tratamiento. En cuanto a las diferencias reportadas para niños solo después de los 5 años de edad ésto, además de a las hormonas, pudiera también estar asociado con el desarrollo y el tamaño de los vasos y la pared endotelial la cual se desarrolla hasta tener los niños un mayor diámetro vascular que las niñas.

Por otro lado es bien conocido el hecho de que el envejecimiento se asocia con alteraciones cardiovasculares tanto funcionales como estructurales. Así pues el envejecimiento se asocia con una disfunción progresiva del endotelio en seres humanos normales. Esta disfunción aparentemente ocurre antes en los hombres que en las mujeres, aunque en las mujeres suele aparecer alrededor de la menopausia [48]. Esto es consistente con el efecto protector de los estrógenos previamente mencionado. Con la edad, además se ha encontrado que disminuye la disponibilidad en el endotelio vascular de óxido nítrico [49]. También con la edad aumenta la rigidez de las arterias aórticas y aunque en menor grado la de las arterias periféricas.[50] Además de esta disminución en la flexibilidad se ha reportado que la edad correlaciona con un engrosamiento de la pared arterial central y aumento en los marcadores de adhesión y un aumento de la permeabilidad endotelial[51]. A si mismo, las arterias disminuyen su vasodilatación endotelio-dependiente medida como FMD conforme aumenta la edad.[51]

Quizá la rigidez y engrosamiento de las arterias pueden asociarse con una menor transferencia de nutrientes y de carga viral de la linfa a la sangre lo cual pudiera explicar la menor carga viral encontrada en los pacientes mayores o quizá el aumento de la permeabilidad correlacione con una mejor transferencia del virus a otros tejidos obteniéndose el mismo resultado. Sin embargo aún falta comprender el papel del tratamiento en dichas diferencias observadas.

### 7.2.3 La función endotelial y el tratamiento

Como se mencionó con anterioridad, en otro estudio se encontró que las diferencias de carga viral entre niños y niñas disminuían al recibir tratamiento antirretroviral. De igual forma en este estudio el tratamiento parece tener un efecto tal que las diferencias en la carga viral de hombres y mujeres ya no son notorias. Se propuso como hipótesis explicativa a dichas diferencias, de acuerdo con el modelo tricompartmental, la falta de efectividad en el tratamiento. Sin embargo siguiendo con la hipótesis de que dichas diferencias pudieran estar asociadas a las diferencias en la función endotelial es importante conocer si se han reportado efectos del tratamiento antirretroviral en la función endotelial de los pacientes infectados por el VIH-1.

Diversos trabajos han sugerido un aumento en el riesgo de enfermedades coronarias en pacientes infectados por el VIH que reciben tratamiento con inhibidores de proteasas aunque dichos resultados aun son controversiales debido al daño intrínseco que el virus puede generar en el endotelio [52]. Al parecer los inhibidores de proteasas que se incluyen en el tratamiento antirretroviral pueden disminuir la vasodilatación endotelio-dependiente de los pacientes e inhibir la síntesis de óxido nítrico en el sistema [53,54]. Por lo tanto el probable daño generado en el endotelio de los pacientes, tanto hombres como mujeres, debido al tratamiento, puede estar enmascarando las diferencias que se observan en el caso de los pacientes sin tratamiento.

### **7.3 Otras alternativas**

Desde luego la función endotelial no es la única alternativa biológica que pudiera estar relacionada con los comportamientos observados en la carga viral de los pacientes. Independientemente del papel del endotelio, las hormonas por si mismas pudieran estar generando diferencias, en la replicación viral o en la respuesta inmunológica a la infección. En trabajos previos, donde también se encontraron diferencias en la carga viral de hombres y mujeres [1,15,16], se propone que las hormonas pueden ser un factor contribuyente en los resultados encontrados. El hecho de que las mujeres tengan una menor carga viral pudiera estar relacionado con una mayor activación inmunológica generándose así, un mayor control en la replicación viral en la infección temprana [15]. Sin embargo, es difícil proponer hipótesis claras al respecto ya que de manera general, aún existen muchas interrogantes acerca del papel de las hormonas en la respuesta inmunológica.

Como se mencionó con anterioridad (Sección 6.14), el modelo empleado de tres compartimentos es sólo uno de los muchos modelos dinámicos que se han construido para tratar de comprender la dinámica viral. Actualmente diversos estudios han revelado la importancia de la activación y proliferación de los linfocitos en la evolución de la infección por el VIH-1 y existen modelos que incluyen dichos parámetros [55]. Por tanto, una alternativa sería construir un modelo matemático que tome en cuenta las diferencias de género en la activación y proliferación que aporte información sobre las diferencias en la dinámica de ambos sexos. En un futuro, incluso puede construirse un modelo matemático que considere al endotelio vascular como un cuarto compartimento diferente entre hombres y mujeres para tratar de precisar las relaciones complejas que subyacen en la infección por el VIH-1. Es innegable entonces que existe más de una posibilidad por explorar para acercarnos a una mejor comprensión de la dinámica viral y sus variaciones entre hombres y mujeres.

## VIII. CONCLUSIONES

- 8.1. Se analizó una muestra de población mexicana de 6,613 pacientes infectados por el VIH-1. Se encontraron diferencias significativas entre ambos sexos en la carga viral en el plasma principalmente, en individuos que no reciben terapia antirretroviral. El análisis conjunto de pacientes, tratados y no tratados, no reveló diferencias significativas en la carga viral en el plasma entre hombres y mujeres. Esto puede explicar cierta controversia existente en artículos previos donde no se encuentran diferencias en la carga viral entre ambos sexos [13,14].
- 8.2. Los hombres tienen mayor carga viral en el plasma que las mujeres (30% más carga viral; Sig. = .008) en la población de pacientes que no reciben tratamiento antirretroviral.
- 8.3. Los hombres consistentemente tienen mayor carga viral en el plasma que las mujeres en los pacientes sin tratamiento antirretroviral en la mayor parte de los intervalos de conteo linfocitario. Esto es especialmente significativo en el intervalo comprendido entre 200-350 células/microlitro (Sig.=.014) donde los hombres tienen en promedio casi el triple de carga viral (proporción de 2.95). Sin embargo, esta tendencia se invierte ligeramente para el caso de pacientes con menos de 50 células/microlitro sin llegar a ser estadísticamente significativa.
- 8.4. Los hombres tienen consistentemente mayor carga viral en el plasma que las mujeres, en los pacientes sin tratamiento antirretroviral, en todos los intervalos de edad. Esta tendencia se mantiene aún en las personas mayores de 55 años, edades que corresponden en su mayoría con los cambios hormonales de la menopausia.
- 8.5. No existen diferencias estadísticamente significativas detectables entre la carga viral en el plasma de hombres y mujeres en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral, con excepción del caso de los pacientes mayores de 55 años donde los hombres presentan una carga viral 2.07 veces mayor (Sig. = .043).
- 8.6. Existe una diferencia estadísticamente significativa entre pacientes adultos y pacientes mayores en la carga viral medida en plasma, para el caso de los pacientes que reciben tratamiento antirretroviral, donde la carga viral disminuye después de los 55 años de edad tanto en hombres como en mujeres (Sig. =.004 y .000 respectivamente).
- 8.7. A partir del porcentaje encontrado de probable falla virológica (35%) en la base de datos analizada, se recomienda revisar los esquemas de tratamiento de los pacientes para incrementar la eficiencia en la reducción de la carga viral de los pacientes tratados. En especial se recomienda revisar el caso de las niñas tratadas donde cualitativamente la carga viral es mucho mayor que en los niños tratados.
- 8.8. Dado que pueden existir diferencias en la carga viral en plasma de hombres y mujeres cuyos conteos linfocitarios están por encima de las 200 células/microlitro, se recomienda tomar en cuenta de forma integral las diferencias de género encontradas, cuando se toma la decisión de si se debe o no iniciar un esquema de terapia antirretroviral.
- 8.9. De acuerdo con el análisis de correlación, en la relación lineal del conteo linfocitario y la carga viral, existe mayor correlación negativa para el caso de las mujeres. Esto es un indicador de que la dinámica y la relación entre ambos parámetros presenta diferencias asociadas al sexo.

- 8.10. Las diferencias encontradas en la carga viral en plasma de hombres y mujeres pueden ser entendidas en términos de un modelo tricompartmental y ser asociadas a diferencias en la tasa de eliminación o desaparición del virus en sangre y/o a diferencias en la tasa de transferencia viral de tejido linfático a sangre.
- 8.11. Las diferencias en los coeficientes dinámicos de la dinámica viral en el modelo pueden atribuirse, en términos biológicos, a variaciones en el endotelio vascular entre hombres y mujeres, relacionadas con la transferencia y eliminación de virus. Dado que la función endotelial presenta a su vez variaciones asociadas al sexo, edad, infección, y tratamiento, puede representar una alternativa explicativa viable en relación a los comportamientos observados. Aún falta más evidencia que sustente esta hipótesis. Suponiendo que las diferencias observadas se deben al endotelio vascular, aún es necesario determinar si éstas son reflejo de las variaciones hormonales asociadas al endotelio u otra propiedad diferente entre hombres y mujeres, intrínseca a la constitución del endotelio como el diámetro o el grosor de la pared endotelial.
- 8.12. En lo que se refiere a la conclusión 8.2, ésta tendencia ya ha sido reportada en trabajos previos [15]. La inversión de la tendencia para el intervalo de menos de 50 células/microlitro pudiera ser un indicador de los efectos nocivos que tiene la infección misma en el endotelio vascular, lo cual es especialmente notorio cuando los conteos linfocitarios son bajos y aparecen los síntomas de la enfermedad. Cuando la infección está muy avanzada, el mismo virus puede cambiar así las propiedades del endotelio y por lo tanto, las diferencias entre ambos sexos.
- 8.13. La conclusión 8.3 es consistente con el hecho de que se han encontrado mayores cargas virales en niños que en niñas después de los 4 años de edad [47] pese a que el ambiente hormonal puede considerarse aún en desarrollo. Una hipótesis al respecto es que después de cierta edad el diámetro y propiedades del endotelio vascular son diferentes en hombres y en mujeres independientemente del ambiente hormonal. Otra hipótesis es que aún las ligeras diferencias en los niveles hormonales existentes en niños y niñas, o bien las existentes entre hombres y mujeres postmenopáusicas, son suficientes para generar diferencias en la función endotelial asociadas con la transferencia y eliminación del virus.
- 8.14. En relación a la conclusión 8.5, de acuerdo con el modelo tricompartmental, esto pudiera deberse en específico a una falta de eficiencia en el tratamiento de los pacientes de la base de datos analizada. Por otro lado, también puede tratarse de un efecto sinérgico del tratamiento (probablemente los inhibidores de proteasa) [53] en el endotelio vascular que enmascara las diferencias de género.
- 8.15. En relación a la conclusión 8.6, debido a que se ha encontrado que existe una variación del endotelio vascular asociada al envejecimiento en ambos sexos [49,50], una hipótesis que pudiera explicar el decremento observado, es el endurecimiento de las arterias que pudiera disminuir la transferencia de virus a la sangre y por lo tanto también disminuyen los niveles medidos de carga viral en plasma. Por otro lado, dado que dicha disminución se observa principalmente en pacientes bajo tratamiento, es probable que la conjunción de ambos efectos, tratamiento y edad, pudieran explicar dicha variación, dado que el tratamiento ha reportado en algunos estudios provocar daño endotelial.

## **IX. PERSPECTIVAS**

Aun existen muchas interrogantes sobre los mecanismos detrás de las diferencias encontradas en la carga viral de hombres y mujeres. Aunque el modelo tricompartmental nos da pistas y la función endotelial parece ser una hipótesis biológica viable, aún falta investigación que corrobore el papel del endotelio vascular en las diferencias en la carga viral asociadas al sexo de los pacientes. Para ello se ha trabajado en un protocolo de investigación que una vez iniciado incluirá mediciones clínicas de la función endotelial y la carga viral entre otros marcadores clínicos de la infección, para encontrar posibles correlaciones. También es claro que las diferencias observadas en la carga viral de los pacientes pueden deberse no sólo a diferencias en la función endotelial, sino a las diferencias en la respuesta inmunológica moduladas a nivel hormonal, entre otros factores. Aún falta mucho por entender acerca de las diferencias entre ambos sexos tanto en la respuesta inmunológica en general como en la infección por el VIH-1.

## X. BIBLIOGRAFIA

- [1] Sterling T.R., Vlahov D. , et. al., “*Initial Plasma HIV-1 RNA Levels and progression to aids in women and men*” N Engl J Med 2001 344(10).
- [2] Cocho, G., Huerta, L., Martínez-Mekler, G. and Villarreal, C. “*A multiple compartment model for the evolution of HIV-1 after highly active antiretroviral therapy*”. In : *Mathematical approaches for emerging and reemerging infectious disease. An introduction.* Castillo-Chávez, C., Blower, S., Van Den Driessche, P., Kirschner, D. and Yakubu, A. eds. Springer Verlag, New York. 2002.
- [3]UNAIDS Joint United Nations Programme on HIV / AIDS Epidemic Update 2006  
[http://www.unaids.org/en/HIV\\_data/epi2006/default.asp](http://www.unaids.org/en/HIV_data/epi2006/default.asp)
- [4]CENSIDA: Panorama epidemiológico 2006 SSA  
<http://www.salud.gob.mx/conasida/estadis/2006/panoepide30jun2006.pdf>
- [5]Kuby, Janis *Immunology* 4a Edición Ed. W.H. Freeman Nueva York 2000 650 pp.
- [6] Guyton A. C, Hall J. E. , *Tratado de Fisiología Médica* 9ª Ed. McGraw-Hill Interamericana México 2000.
- [7]Parslow T.G. , Stites D. P. , Terr A.I., Imboden J.B. *Inmunología básica y clínica* 10ª. Edición Ed. Manual Moderno 2001 918 pp.
- [8]Abbas A.K, Lichtman A. H., Pober J.S., *Inmunología celular y molecular* 4ª. Edición McGraw-Hill Interamericana España 2002 577 pp.
- [9]Paul W. E. *Fundamental Immunology* 4ª. Edición Ed. Lippincott Williams & Wilkins EUA 1999 . 1661pp.
- [10] Gilad J., Walfisch A., et. Al. *Gender difference and sex-specific manifestations associated with human immunodeficiency virus infection in women* European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology, 2003, 15;109(2): 199-205.
- [11] Nicastrì E., Angeletti C., et. Al. *Gender difference in Clinical progression of HIV-1 infected individuals during long-term highly active antiretroviral therapy*, AIDS 2005, 19: 577-583.
- [12] Moore A. L., Mocroft A., et. Al. *Gender differences in Virologic Response to Treatment in an HIV-Positive Population: A Cohort Study*, JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 2001, 26(2) : 159-163.
- [13] Gandhi, M. et. Al. *The effect of gender/sex on viral load, pharmacokinetics and responses to antiretroviral therapy.* 9<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infection: July 2003.
- [14] Moore R.D. Cheever L. et. al. *Lack of sex difference in CD4 to HIV-1 RNA viral load ratio* The Lancet 1999, 353:463-464.
- [15]Donnelly C.A., Bartley L.M., et. al. “*Gender difference in HIV-1 RNA viral loads*” HIV Medicine, 2005 6:170-178.

- [16]Anastos K. et. al. *Association of Race and Gender with HIV-1 RNA Levels and Immunologic Progression*; Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes 2000, 24:218-26.
- [17] Greenblatt R. M., Ameli N., et. al. *“Impact of the Ovulatory Cycle on Virologic and Immunologic Markers in HIV-Infected Women”* The Journal of Infectious Diseases 2000;181:82–90.
- [18] Money, D. et. Al *Genital tract and plasma human immunodeficiency virus viral load throughout the menstrual cycle in women*. American Journal of Obstetrics and Gynecology,2003,188(1), 122-128.
- [19] *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents*, Office of AIDS research advisory Council (OARAC), NIH, EUA, 2006.
- [20] *Guía de manejo antirretroviral de las personas que viven con el VIH/SIDA* Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA) Segunda Edición, México 2005-2006.
- [21] Quillet, Diccionario de la Lengua Española, Tomo III; Cumbres; México D.F; 1979: 370.
- [22] Thakur M.D. *Sex Steroid Signaling During Aging* Proceedings of the Indian National Science Academy, Biology of Aging, B69, n.2 pp 179-190
- [23] Dawson B., Trapp R.G. *Bioestadística Médica* 3ª. Edición Ed. El Manual Moderno México 2002.
- [24] Perelson A., Ho D, et al. *HIV-1 Dynamics in Vivo: Virion Clearance Rate, Infected Cell Life-Span and Viral Generation Time* Science 1996 271:1582-1586
- [25] Perelson A., Ho D., et. al. *Decay characteristics of HiV-1-infected compartments during combination therapy* Nature 1997 387:188-191
- [26] Perelson A., Hlavacek W. et. al. *Influence of Follicular Dendritic Cells of HIV during antiretroviral therapy* PNAS 2000, 97:10966-10971
- [27]Müller V., De Boer R. *Release of Virus from Lymphoid Tissue Affects Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis C Virus Kinetics in the Blood*, Journal of Virology 2001, 75(6):2597-2603.
- [28] Mellors et. al. *Association of Plasma HIV-1 RNA level with Decline in CD4+ cell Count and Risk of AIDS and Death*. Annuals of Internal Medicine 1997, 126:946-954.
- [29]Fauci S. A. *Mutifactorial Nature of Human Immunodeficiency Virus Disease: Implications for Therapy* Science 1993, 262:1011-1018 In: G. Pantaleo, C. Graziosi, A.S. Fauci, N.Eg. J. Med 1993, 328-327.
- [30] Esper RJ, et. Al. *Endothelial dysfunction : a comprehensive appraisal* Cardiovascular Diabetology 2006, 5:4.
- [31] Bussolino F. et. Al. *Review : Interactions between endothelial cells and HIV-1* The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 33 (2001) 371–390.
- [32] Young A. J *The physiology of lymphocyte migration through the single lymph node in vivo* Seminars in Immunology 1999 11:73-83.

- [33] Haase AT. *Population Biology of HIV-1 Infection: Viral and CD4+T cell demographics and Dynamics in Lymphatic Tissues* Annu. Rev. Immunol 1999 17:625-656
- [34] Correti MC, et. Al. *Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery* J Am Coll Cardiol 2002 39 ; 257-256
- [35] Verma S., Buchanana MR, Anderson TJ, *Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease* Circulation 2003; 108:2054-2059.
- [36] Maslin L. V. et al. *Transendothelial Migration of Monocytes: The Underlying Molecular Mechanisms and Consequences of HIV-1 Infection* Current HIV Research 2005, 3:303-317
- [37] Solages A. et. al. *Endothelial Function in HIV-Infected Persons* HIV/AIDS 2006, 42:1325-1332
- [38] Baliga RS. Et. Al. *AIDS-related vasculopathy: evidence for oxidative and inflammatory pathways in murine and human AIDS.* Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005, 289: H1373-H1380.
- [39] Bonnet D. et. al. *Arterial stiffness and endothelial dysfunction in HIV-infected children* AIDS 2004, 18:1037-1041.
- [40] Tostes R.C. et. Al. *Effects of estrogen on the vascular system*, Braz J Med Biol Res 2003, 36 :1143-1158.
- [41] Williams M.R.I., Komesaroff P.A., et. Al. *Variations in Endothelial Function and Arterial Compliance during the Menstrual Cycle* J Clin Endocrinol Metab 2001, 86(11):5389-5395.
- [42] Orshal J.M, Khalil R.F. *Gender, sex hormones, and vascular tone* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2004 286:R233-R249.
- [43] Khalil R.F. *Sex Hormones as potential Modulators of Vascular Function in Hypertension* Hypertension 2005; 46:249-254.
- [44] Jensen-Urstad K., Johansson J. *Gender difference in age-related changes in vascular function* Journal of Internal Medicine 2001; 250:29-36.
- [45] Hinrichs A. *Gender Differences in vascular medicine* Vasa 2007; 36(1):5-16
- [46] Goodkin K. et. Al. *Older age and plasma viral load in HIV-1 infection* 2<sup>nd</sup> IAS Conferences on HIV Pathogenesis and Treatment 2003; Abstract no. 1152.
- [47] European Collaborative Study *Level and pattern of HIV-1-RNA viral load over age: differences between girls and boys?* AIDS 2002; 16:97-104.
- [48] Viridis A. et. al *Endothelial function in hypertension: role of gender* J Hypertens Suppl. 2002; 20(2):S11-6
- [49] Taddei S. et. al. *Endothelium, aging and hypertension* Curr Hypertens Rep 2006; 8(1):84-89.
- [50] Mitchell G.F. et. al. *Changes in Arterial Stiffness and Wave Reflection with advancing age in healthy men and women.* Hypertension 2004; 43:1239-1245.



- [51] Najjar S.S. *Arterial Aging: Is It an Immutable Cardiovascular Risk Factor?* Hypertension. 2005; 46:454-462
- [52] Cotter BR. *Endothelial dysfunction in HIV infection* Curr HIV/AIDS Rep. 2006; 3(3):126-131.
- [53] Wang X., et. al. *Molecular Mechanisms of HIV Protease Inhibitor-Induces Endothelial Dysfunction.* J Acquir Immune Defic Syndr 2007; 44(5):493-9.
- [54] Hürlimann D. et. al. *HIV-Infection, Antiretroviral Therapy, and Endothelium* Herz 2005; 30:472-480
- [55] Yates A. et. al. *Understanding the Slow Depletion of Memory CD4+T Cells in HIV Infection* PLoS Medicine 2007;4(5):0001-0007

## ANEXO 1: Determinación sérica de la carga viral.

La carga viral se determina en pacientes infectados por el VIH-1, mediante el sistema comercial **COBAS AMPLICOR HIV-1® Test de Roche®**.

Este prueba es un procedimiento de reacción en cadena de polimerasa (PCR) donde se realiza una amplificación *in vitro* de los ácidos nucleicos para realizar una cuantificación del RNA del virus de inmunodeficiencia adquirida tipo 1 (VIH-1) en el plasma humano. Para ello se emplea el monitor estandarizado **HIV MONITOR v.1.5 AMPLICOR® de Roche®**. El procedimiento estándar de la preparación de muestras es el siguiente:

1. Una vez determinado el número de A-rings necesarios para realizar una carga de trabajo y preparar la mezcla maestra (Master Mix) el tiempo para llevar a cabo la amplificación no deberá sobrepasar 4 horas.
2. Disuelva los cristales que se forman en el Buffer de Lisis (HIV-1 Lys) calentándolo a 25-37°C y mezclándolo vigorosamente. Asegúrese que al momento de usarlo esté a temperatura ambiente.
3. En la hoja de registro anote las localizaciones de los controles y las muestras en el A-ring, así como el número del lote y el número de copias de QS específico de cada lote.
4. Codifique u tubo Sarstedt de 2.0 mL por cada muestra que va a ser procesada, incluyendo tubos para los controles negativo, positivo bajo y positivo alto. Ponga una marga de orientación en cada tubo.
5. Prepare etanol al 70% añadiendo 7mL de etanol absoluto a 3 mL de agua desionizada o mezcle 11mL de etanol al 95% con 4 mL de agua desionizada. Se requiere 1 mL de etanol al 70% para cada muestra y control procesados.
6. Prepare la solución e trabajo del Buffer de Lisis añadiendo 100 µL del Estadar de Cuatificación (HIV-1 QS), previamente mezclado en el vórtex durante 10 segundos, a un frasco de HIV-1 Lys. Mezcle bien agitando en el vórtex.
7. Añada 600 µL de la solución de trabajo del Buffer de Lisis a cada tubo Sarstedt de 2.0 mL.
8. Añada 200 µL de Plasma Humano Normal (NHP), previamente mezclado durante 3-5 segundos, solamente a los tubos que serán utilizados para procesar los Controles Negativo, Positivo bajo y Positivo alto. Mezcle bien en el vórtex.
9. Mezcle los controles Negativo, Positivo bajo y Positivo Alto y añada 50 µL da su correspondiente tubo. Mezcle bien en el vortex.
10. Mezcle cada muestra de plasma antes de añadir 200 µL al tubo correspondiente que contiene la solución de trabajo del Buffer de Lisis. Mezcle bien en el vórtex.
11. Incube todos los tubos a temperatura ambiente durante 10 minutos.
12. Añada 800 µL de isopropanol a cada tubo. Mezcle bien el el vórtex.
13. Ponga los tubos en la microcentrífuga con la marca de orientación hacia fuera. A esta marca se alineará el pellet. Centrifugue los tubos durante 15 minutos a 12,500-16,000g a temperatura ambiente.
14. Retire el sobrenadante utilizando una pipeta desechable de transferencia con punta fina. Tenga cuidado de no tocar con la punta de la pipeta el pellet.
15. Añada 1.0 mL de etanol al 70% (recién preparado) a cada tubo y mezcle en el vórtex.
16. Ponga los tubos en la microcentrífuga con la marca de orientación hacia fuera. Centrifugue durante 5 minutos a 12,500-16,00 g a temperatura ambiente.
17. Retire el sobrenadante utilizando una pipeta desechable de transferencia con punta fina. Tenga cuidado de no tocar con la punta el pellet. Debe extraerse tanto sobrenadante como sea posible. Residuos de etanol pueden inhibir la ampificación.
18. Añada a cada tubo 400 µL del diluyente HIV-1 Dil y mezcle vigorosamente en el vortex durante 10 segundos. Tanto las muestras como los controles deben ser procesados entro de las 2 horas siguientes o bien pueden ser congelados a -20°C por hasta una semana.
19. Añada 50 µL de cada muestra y control procesado a su correspondiente tubo en el A-ring. Utilice para ello una micropipeta y puntas con filtro. No transfiera ningún material precipitado de las muestras. Cierre los tubos.
20. Lleve el A-ring a la zona de post-PCR.

## ANEXO 2:Determinación sérica de linfocitos CD4

El Sistema InmunoPrep analiza los leucocitos por medidas de inmunofluorescencia en citómetros de flujo ópticos. El sistema está diseñado para su uso en el equipo Coulter Q-Prep.

### Resumen:

La clasificación de leucocitos de acuerdo a la expresión de los antígenos de superficie provee de información diagnóstica y pronóstica.

Los métodos históricos para la determinación sérica de leucocitos incluyen técnicas de lisado y separación por gradiente de densidad. Tales procedimientos requieren de lavado de la muestra. Lo anterior puede dañar selectivamente a las células. El Sistema Inmuno prep. No requiere de lavado eritrocitario, conservando la morfología y superficie celular leucocitaria.

Esto es realizado por tres componentes del sistema: Un agente lítico eritrocitario, un estabilizador leucocitario y un fijador de membrana.

Reactivos:	Q-Prep
Inmuno Prep A	70 mL
Inmuno Prep B	32 mL
Inmuno Prep C	14 mL

### Inmuno Prep A:

Acido Fórmico.....	1.2 mL
Estabilizador	

### Inmuno Prep B

Carbonato de Sodio.....	6.0 g/L
Cloruro de Sodio.....	14.5 g/L
Sulfato de Sodio.....	31.3 g/L
Estabilizador	

### Inmuno Prep C

Paraformaldehido.....	10.0 g/L
Buffers	

### Precauciones

- 1) Inmuno Prep C contiene 1% de formaldehido. El contacto con la piel y ojos pueden causar efectos irreversibles. No respirar los vapores. Se requiere de equipo tal como cubrebocas y gafas.
- 2) El contacto directo por contigüidad de las muestras puede transmitir la infección.
- 3) No hacer contacto de mucosas con las pipetas.
- 4) Los tiempos de incubación o la temperatura inadecuadas pueden dar resultados erróneos.

### Conservación:

Guardar en un lugar con temperatura ambiente (20-25oC). No abrir los paquetes después de la fecha de caducidad indicada en el mismo. Los paquetes abiertos son estables durante 30 días posterior a la instalación en el equipo correspondiente.

La apariencia normal del reactivo es de líquido claro, El cambio de coloración del mismo o la falla en la realización del lisado eritrocitario puede indicar el deterioro del reactivo.

### Procedimiento:

- 1) Para cada muestra, se requieren de tubos de 12 x 75 mm para las pruebas de anticuerpos monoclonales.
- 2) Colocar la muestra con una pipeta de 100 uL. Asegurarse de que la superficie interna y el tapón del tubo están libres de contenido sanguíneo.
- 3) Agregar 10 ul de anticuerpo monoclonal (CYTO/STAT)-
- 4) Incubar en un tubo con anticoagulante la muestra durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- 5) Analizar la muestra en el citómetro de flujo, colocando la muestra en el equipo, ciclando la misma durante 35 a 90 segundos.
- 6) Evaluar los resultados.