

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE FÍSICA



UN ENFOQUE CELULAR EN EL ESTUDIO
DE LA DINÁMICA DEL VIRUS DE
INFLUENZA A

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA)

PRESENTA:

KARLA SUSANA RÉCAMIER MÉNDEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CARLOS VILLARREAL LUJÁN

COMITÉ TUTORAL:

DRA. NATALIA BÁRBARA MANTILLA BENIERS

DR. GERMINAL COCHO GIL

2011



posgrado en ciencias físicas
u n a m



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Índice

Resumen	3
Summary	4
Introducción	5
Respuesta Inmune e Infección Viral	
Sistema Inmune	7
Infecciones Virales	12
Virus de Influenza A	13
Estructura del virus de Influenza A.....	13
Replicación del virus de Influenza A.....	15
Epidemiología del virus de Influenza A.....	16
Pandemia de Influenza A H1N1 2009.....	19
Modelo de la interacción del virus de Influenza A con el sistema inmune y células del tracto respiratorio	
Antecedentes	21
Modelo Matemático	24
Resultados	
Dinámica celular y viral	31
Dinámica de la infección ante terapia antiviral.....	42
Dinámica de la infección en el espacio fase	45
Dinámica a largo plazo de las poblaciones celulares y virales	51
Dinámica a largo plazo considerando diferentes condiciones iniciales.....	53
Dinámica a largo plazo considerando un modelo simplificado.....	56
Dinámica a largo plazo considerando diferentes tasas de infección de células epiteliales.....	70
Discusión y Conclusiones	71
Referencias	73

Resumen

En abril del 2009 México fue el protagonista del inicio de una epidemia del virus de influenza A, declarada oficialmente (por la Organización Mundial de la Salud (OMS)) la primera pandemia de influenza en más de 40 años para junio del mismo año. Dado que con anterioridad han ocurrido epidemias de este tipo, que han tenido rasgos catastróficos, surgieron múltiples estudios al respecto desde el punto de vista epidemiológico, clínico, genético, etc.

Existen diversos modelos para describir la dinámica de la infección viral y su interacción con el sistema inmune. En esta tesis se realiza un estudio basado en un modelo matemático que describe la dinámica de la infección del virus de influenza A en células del tracto respiratorio y su relación con la respuesta inmune. Se caracterizan los mecanismos y parámetros fisiológicos que influyen en el proceso infeccioso y de recuperación, así como en la acción de terapias antivirales.

Summary

In april 2009, México was the main character in the beginning of an influenza A virus epidemic officially declared (by the World Health Organization (WHO)) the first influenza pandemic in over 40 years by june that same year. Given the fact that epidemics such as this have risen in the past with catastrophic effects, multiple studies from different points of view (biological, clinical, genetic, etc) were presented.

There are many models that describe the dynamics of the viral infection and its interaction with the immune system. In this thesis we present a study based on a mathematical model that describes the dynamics of the influenza A virus infection in respiratory tract cells and its relationship with the immune system. The mechanisms and physiological parameters that take place in the infection and recovery are characterized, as well as the action of antiviral therapies.

Introducción

La influenza es una infección viral del tracto respiratorio que afecta millones de personas anualmente, siendo así una de las principales causas de muerte alrededor del mundo. La pandemia de 1918 causó la muerte de más de 20 millones de personas siendo así el brote más grande y destructivo de una enfermedad infecciosa en la historia.

A partir de que se aisló el virus de influenza en 1933 se le ha dado mucha atención a su estructura, su genoma, la respuesta inmune que desencadena, vacunas para protegerse contra él y su epidemiología [16], [29], [30]. Sin embargo, la información respecto a la acción del virus de influenza durante una infección dentro de un individuo es más limitada. El patrón estándar de una infección de influenza A en adultos está caracterizado por un crecimiento exponencial de la carga viral que tiene su pico en el segundo o tercer día después de la infección, seguido de un decrecimiento exponencial hasta que es indetectable después de 6 u 8 días [38]. La infección viral da lugar a respuestas inmunes innatas y adaptativas. Éstas son primordiales para modular la replicación del virus en el tracto respiratorio. Tanto la respuesta inmune mediada por células T citotóxicas, como la mediada por anticuerpos suele ocurrir después del pico de la replicación viral. Mientras que la respuesta inmune innata se detecta tempranamente y provee la primera línea de defensa contra la replicación de la influenza.

Aún cuando se tiene una idea general de la respuesta inmune a la infección del virus de influenza A, no se entiende cuantitativamente la compleja interacción entre la dinámica viral y la respuesta del hospedero durante la infección. Entender cómo combate el sistema inmune la infección del virus de influenza y cómo el virus puede afectar al sistema inmune es crucial para predecir y diseñar estrategias terapéuticas contra la infección.

Los modelos matemáticos han probado ser una herramienta útil en el entendimiento de la respuesta inmune a enfermedades infecciosas. Estos ayudan a aclarar y probar hipótesis, a encontrar el menor número de factores relevantes para explicar el fenómeno biológico y a analizar resultados experimentales. Asimismo, los modelos tienen también un impacto en la investigación a nivel molecular. Es por esto que se han usado ampliamente modelos matemáticos y simulaciones en computadoras para estudiar la dinámica viral y respuestas inmunes a infecciones virales como la causada por el VIH, el virus de hepatitis C y el virus de influenza A. Existen desde modelos muy sencillos hasta modelos compartamentales complejos del sistema inmune y modelos que incorporan ecuaciones diferenciales con retraso para reflejar mejor el tiempo que las células permanecen en un compartimento particular o la duración o tránsito entre compartimentos.

Entre otros trabajos podemos citar el de Bocharov y Romanyukha [1] donde se propone un modelo matemático de la respuesta inmune antiviral, para describir cuantitativamente los mecanismos principales de una infección de influenza A. Se muestra que las variaciones en los parámetros del sistema virus-célula epitelial son los más influyentes en la gravedad de la infección, más incluso que

aquellos de la respuesta inmune antiviral. Por otro lado, Hancioglu et.al. [2] presentan un modelo dinámico simplificado de la respuesta inmune a una infección sencilla de influenza A, que se enfoca en el control de la infección por medio de la inmunidad innata y adaptativa. Baccam et.al. [3] consideran una serie de modelos matemáticos que incorporan un número finito de células blanco. Los modelos se ajustan a datos experimentales de una infección de influenza H1N1 y muestran que la infección desaparece sin la acción de interferón o del sistema inmune, como consecuencia del número finito de células blanco. En el trabajo de Lee y colaboradores [4] se muestra un modelo matemático de dos compartimentos (pulmón y sistema linfático) que cuantifica la interacción entre la replicación viral y la inmunidad adaptativa. El modelo representa resultados experimentales publicados sobre la infección del virus de influenza y se ha usado para generar diferentes escenarios de la acción de la respuesta inmune. Una comparación de diferentes cepas del virus de influenza (H5N1 aviar, H1N1 estacional y H1N1 pandémica) que infectan células epiteliales bronquiales humanas muestra que las diferencias en la productividad de cada cepa son función de la eficiencia de replicación intracelular, no de la eficiencia de entrada a la célula (Mitchell et.al. [5]).

En esta tesis se estudia un modelo matemático que describe la dinámica de la infección del virus de influenza A y su interacción con células del tracto respiratorio y células del sistema inmune. Para ello en la primera parte del trabajo se estudian generalidades del sistema inmune, de las infecciones virales y del virus de influenza A. El modelo matemático consiste de poblaciones virales, de células epiteliales y componentes de la respuesta inmune humoral y celular. Esto da lugar a un sistema de 15 ecuaciones diferenciales acopladas. Posteriormente, se presentan las soluciones numéricas del modelo tomando como base los parámetros fisiológicos propuestos en [4]. Las soluciones presentadas conducen a una descripción general razonable de la infección viral, sin embargo, dan lugar a algunas dinámicas incompatibles con una visión realista del problema, como es el hecho de que ocurriría una disminución excesivamente grande de las células epiteliales que no permitiría la recuperación de un paciente infectado por el virus de influenza A. Entonces se realiza un análisis de los parámetros de la infección para explorar cuales tienen mayor influencia en el comienzo, duración y gravedad de la infección. Posteriormente, se examina el efecto de drogas antivirales tomando en cuenta los parámetros de infección originales y los derivados de nuestro análisis. A modo complementario, se realiza un estudio en el espacio fase definido por las variables del modelo que nos permite entender algunas relaciones entre estas variables que no son aparentes en el espacio original de configuración. Los resultados obtenidos llevaron a considerar la dinámica de la infección a largo plazo. Aquí encontramos que pueden ocurrir resurgimientos de la infección. Entonces se plantea un modelo simplificado que permite estudiar los parámetros más relevantes de nuestro sistema asociados con dicho fenómeno. Finalmente, se presenta una discusión de los resultados derivados de este trabajo.

Respuesta Inmune e Infección Viral

En este capítulo se presentan fundamentos del funcionamiento del sistema inmune, se discutirán aspectos del sistema inmune humoral y celular, de las infecciones virales y en particular del virus de influenza A. Para presentar un panorama más completo de la infección se muestran aspectos de la propagación de la pandemia del año 2009, sin embargo este punto no se discutirá con detalle en esta tesis.

Sistema Inmune

El sistema inmune es un sistema de defensa que protege a los seres vivos de la invasión de microorganismos patógenos. Desde el punto de vista funcional, una reacción inmune puede dividirse en dos actividades vinculadas: reconocimiento y respuesta.

El sistema inmune incluye componentes innatos y adaptativos. Puede considerarse que la inmunidad innata comprende 4 tipos de barreras de defensa:

1. anatómica: piel y mucosas
2. fisiológica: temperatura, pH bajo, mediadores químicos
3. fagocítica/ endocítica
4. inflamatoria

La respuesta inmune innata inflamatoria se activa de manera inespecífica como reacción a ciertas proteínas presentes en la pared celular de bacterias y otros agentes patógenos. Actúa en corto tiempo y es compartida por la mayoría de los seres vivos.

La inmunidad adaptativa es capaz de reconocer y eliminar de manera selectiva microorganismos y moléculas extrañas específicos (antígenos extraños). Posee 4 atributos característicos:

1. especificidad antigénica
2. diversidad
3. memoria inmunitaria
4. presencia o ausencia de autorreconocimiento

Las inmunidades adaptativa e innata no operan de manera independiente: funcionan como un sistema interactivo y colaborador que genera una respuesta combinada eficaz. Una diferencia importante entre las inmunidades adaptativa e innata es la rapidez de la reacción inmunitaria innata, que utiliza un repertorio preexistente, pero limitado, de componentes reactivos. La inmunidad adaptativa compensa su inicio más lento con su capacidad para reconocer una amplitud

mayor de sustancias extrañas y la posibilidad de ser más eficaz durante una respuesta, mientras que la inmunidad innata permanece constante.

Varios órganos y tejidos, diferentes desde el punto de vista morfológico y funcional, tienen diversas funciones en la formación de las respuestas inmunitarias y pueden distinguirse en órganos linfoides primarios y secundarios. El timo y la médula ósea son los órganos linfoides primarios (o centrales) en los que se lleva a cabo la maduración de linfocitos. Los ganglios linfáticos, el bazo y varios tejidos linfoides relacionados con la mucosa, como el tejido linfóide del intestino, son los órganos linfoides secundarios (o periféricos), que atrapan antígeno y proporcionan sitios para que interactúen los linfocitos maduros con dicho antígeno. Además, los tejidos linfoides terciarios, que en condiciones normales contienen menos células linfoides que los órganos linfoides secundarios, pueden atraer células linfoides durante una respuesta inflamatoria. Los más notables de ellos son los tejidos linfoides relacionados con la piel. Todos estos forman parte del sistema linfático, una red de vasos que recoge líquido que se escapa hacia los tejidos de los capilares del sistema circulatorio y lo devuelve a la sangre.

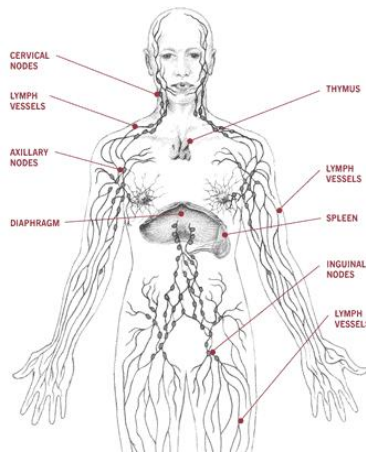


Figura 1. Sistema Linfático [6]

Una reacción inmunitaria eficaz incluye 2 grupos principales de células: linfocitos B y T y células presentadoras de antígenos. Los linfocitos son uno de muchos tipos de glóbulos blancos que se producen en la médula ósea por hematopoyesis, salen de la médula ósea, circulan en la sangre y los sistemas linfáticos y van a residir a diversos órganos linfoides.

Los linfocitos B maduran dentro de la médula ósea; cuando la abandonan, cada uno expresa un receptor de unión de antígeno único en su membrana. Este receptor es una molécula de anticuerpo. Los anticuerpos son glucoproteínas que poseen 2 cadenas polipeptídicas pesadas e idénticas y 2 ligeras también idénticas. Cada cadena pesada está unida a una ligera por enlaces disulfuro y los 2 pares se conservan unidos entre sí mediante enlaces disulfuro adicionales. Los extremos aminoterminales de los pares de cadenas pesada y ligera forman una hendidura dentro de la cual se unen antígenos.

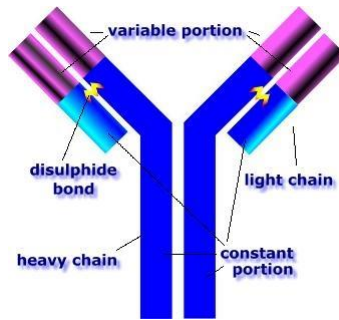


Figura 2. Estructura de una molécula de anticuerpo [7]

Cuando una célula B encuentra por primera vez el antígeno que corresponde a su anticuerpo, la unión de éstos da lugar a que la célula se divide con rapidez y cuya progenie se diferencia en células B de memoria y células B efectoras llamadas plasmáticas. Las células plasmáticas producen el anticuerpo en una forma que puede secretarse y no tienen anticuerpo unido a membrana o tienen muy poco. Aunque sólo duran unos cuantos días, secretan cantidades enormes de anticuerpos durante este periodo. Se estima que una sola célula puede liberar más de 2000 moléculas de anticuerpo por segundo. Los anticuerpos secretados son las principales moléculas efectoras de la inmunidad humoral. Las células B de memoria tienen un periodo de vida más prolongado y expresan el mismo anticuerpo unido a membrana que su célula B original.

Los linfocitos T también se generan en la médula ósea, pero migran al timo para madurar. Durante su maduración comienzan a expresar en su membrana una molécula de unión de antígeno única denominada receptor de célula T. Los receptores de célula T únicamente pueden identificar antígenos unidos a proteínas de membrana llamadas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Las moléculas del MHC que actúan como “presentadoras de antígeno” son glucoproteínas polimórficas que se encuentran en las membranas celulares. Existen 2 tipos principales: moléculas del MHC clase I, que expresan casi todas las células nucleadas de vertebrados y moléculas del MHC clase II que sólo expresan las células presentadoras de antígeno. Existen 2 subpoblaciones de células T: células T colaboradoras (T_H) y células T citotóxicas (T_C). Las células T colaboradoras (T_H) presentan la glucoproteína de membrana CD4, mientras que las células T citotóxicas (T_C) presentan la CD8. Una vez que la célula T_H reconoce un complejo de antígeno y MHC clase II e interactúa con él, se convierte en una célula efectora que secreta varios factores de crecimiento, conocidos en conjunto como citocinas. Las citocinas tienen una función importante en la activación de las células B, T_C , macrófagos y varios tipos de células más que intervienen en la reacción inmunitaria. Las diferencias en los patrones de citocinas producidas por células T_H activadas tienen como resultado diferentes tipos de respuesta inmunitaria.

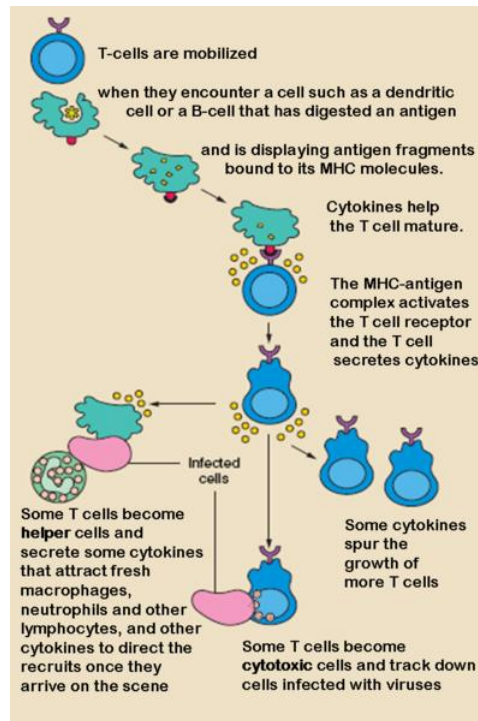


Figura 3. Funcionamiento de linfocitos T [7]

Las células presentadoras de antígeno primero internalizan antígeno, sea por fagocitosis o endocitosis, y a continuación muestran una parte de dicho antígeno en su membrana unido a una molécula de MHC clase II. Esta clase de células incluye a los macrófagos, linfocitos B y células dendríticas y tiene la función de señal coestimuladora necesaria para la activación de las células T_H .

Las reacciones inmunitarias pueden dividirse en humoral y mediada por células. La rama humoral del sistema inmunitario funciona cuando sucede la interacción de las células B con antígeno y su proliferación y diferenciación subsecuentes en células plasmáticas que secretan anticuerpo. El anticuerpo actúa como efector de la respuesta humoral, se une a antígeno y neutraliza o facilita su eliminación. Cuando se recubre un antígeno con anticuerpo, puede eliminarse de varias formas. Por ejemplo, el anticuerpo puede enlazar varios antígenos y formar grumos que las células fagocíticas ingieren más fácilmente. La unión de anticuerpo y antígeno también puede activar el sistema de complemento, que provoca la lisis del microorganismo extraño. El anticuerpo también puede neutralizar toxinas o partículas virales y cubrirlas, lo que impide que se unan a células del hospedero.

Las células T_H activadas y las células T_C sirven como células efectoras en las reacciones inmunitarias mediadas por células. Las citocinas secretadas por células T_H pueden activar varias células fagocíticas y permitirles que fagociten y destruyan microorganismos con mayor efectividad. Este tipo de respuesta

inmunitaria es importante para liberar al hospedero de bacterias y protozoarios contenidos en células infectadas. Las células T_C tienen una función esencial en la destrucción de células infectadas por virus y las células tumorales.

Los linfocitos no reconocen por completo a los antígenos, que son muy grandes y complejos. En realidad, los linfocitos B y T reconocen sitios precisos en el antígeno llamados determinantes antigénicos o epitopos. Éstos son las regiones activas desde el punto de vista inmunológico en un antígeno complejo.

Todas las moléculas de anticuerpo en un linfocito B determinado tienen una especificidad idéntica, lo que otorga a cada linfocito B y sus hijos una especificidad precisa para un epitopo único en cada antígeno. Es por esto que se dice que el linfocito B maduro está comprometido en sentido antigénico. Se estima que la población de células B muestra en conjunto más de 10^{10} diferentes especificidades antigénicas. Esta gran variedad se reduce después de un proceso de selección en la médula ósea que elimina cualquier célula B con anticuerpo unido a membrana que reconoce componentes propios. Esto ayuda a asegurar que no se produzcan anticuerpos autorreactivos (autoanticuerpos).

Los atributos de especificidad y diversidad también caracterizan al receptor de célula T de unión de antígeno. De la misma forma hay un proceso de selección en el timo que elimina cualquier célula T con receptores autorreactivos y permite madurar sólo a células T con receptores capaces de reconocer antígeno relacionado con moléculas de MHC.

Los antígenos complejos son procesados y sus segmentos se muestran con moléculas de MHC en la superficie celular. El antígeno exógeno se produce fuera de la célula hospedera y penetra en ella por endocitosis o fagocitosis. Las células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas y células B) degradan el antígeno exógeno en fragmentos peptídicos que luego se presentan con moléculas de MHC clase II en la membrana de la célula. El antígeno endógeno surge dentro de la propia célula hospedera. Un ejemplo son las proteínas virales sintetizadas dentro de la célula hospedera infectada con virus. Los antígenos endógenos se degradan en fragmentos peptídicos que se unen a moléculas de MHC clase I dentro del retículo endoplásmico. A continuación, el complejo péptido-MHC clase I se traslada a la membrana celular.

El encuentro inicial de un linfocito virgen con capacidad inmunitaria con un antígeno induce una respuesta primaria; un contacto posterior del hospedero con antígeno causa una respuesta secundaria más rápida e intensa. La población amplificada de células de memoria explica la rapidez e intensidad que distingue a una reacción secundaria de la primaria [18].

Infecciones virales

Las reacciones inmunológicas tanto innata como adaptativa a los agentes patógenos constituyen un mecanismo de defensa de importancia crítica, pero las enfermedades infecciosas han plagado a las poblaciones humanas durante la historia y producen la muerte de millones de personas cada año.

Ciertos mecanismos efectores específicos de la inmunidad, junto con mecanismos de defensa inespecíficos, entran en juego para la eliminación de los virus infectantes. Al mismo tiempo, el virus actúa para contrarrestar uno o más de estos mecanismos con la finalidad de prolongar su supervivencia. El resultado de la infección depende de la eficacia con la que los mecanismos de defensa del hospedero resistan las tácticas ofensivas del virus.

A menudo los anticuerpos específicos para los antígenos de la superficie viral resultan cruciales para frenar la diseminación de un virus durante la infección aguda y protegen contra la reinfección. Los anticuerpos tienen eficacia particular para proteger contra la infección si se localizan en el sitio de entrada del virus en el cuerpo. La mayor parte de los virus expresa moléculas receptoras en su superficie que les permiten iniciar la infección al fijarse a moléculas membranales específicas de la célula hospedera. Por ejemplo, el virus de influenza se fija a residuos de ácido siálico presentes sobre las glucoproteínas y los glucolípidos de la membrana celular. Si se produce un anticuerpo contra el receptor viral, se puede bloquear la infección y a la vez prevenir la fijación de las partículas virales a la célula hospedera.

Aunque los anticuerpos desempeñan una función importante para frenar la diseminación de un virus durante las fases agudas de la infección, no suelen ser capaces de eliminar el virus una vez que la infección ocurre, en particular si el virus es capaz de entrar en la fase latente en la que su ADN se integra en el ADN cromosómico del hospedero. Los mecanismos inmunitarios mediados por células adquieren importancia máxima para la defensa del hospedero una vez que la infección se establece. En general los principales componentes de la defensa antiviral mediada por células son las células T CD8 y T CD4. Las células asesinas desempeñan una función de importancia en la defensa del hospedero durante los primeros días de muchas infecciones virales hasta que se desarrolla una reacción de linfocitos T citotóxicos específicos.

En la mayor parte de las infecciones virales la actividad de los linfocitos T citotóxicos específicos comienza tres o cuatro días después de la infección, alcanza su máximo en 7 a 10 días y luego disminuye. Dentro de los 7 a 10 días siguientes al inicio de la infección primaria se elimina la mayor parte de los viriones, en paralelo con el desarrollo de los linfocitos T citotóxicos. Estos linfocitos específicos para el virus eliminan las células propias del hospedero infectadas por el virus y en consecuencia eliminan las fuentes potenciales de nuevos virus.

A pesar del tamaño restringido de su genoma, cierto número de virus codificadores de proteínas interfieren a diversos niveles con las defensas específicas o inespecíficas del hospedero. Al parecer la ventaja de estas proteínas radica en que permiten a los virus replicarse con más eficacia aunque estén rodeados

por las defensas antivirales del hospedero. La inhibición de la presentación del antígeno por las células del hospedero infectadas es otro mecanismo para evadir las reacciones del hospedero. Asimismo diversos virus escapan el ataque inmunitario al cambiar en forma constante sus antígenos. En el virus de la influenza, la variación antigénica continua ocasiona la aparición frecuente de nuevas cepas infecciosas. La falta de inmunidad protectora contra estas nuevas cepas emergentes conduce a epidemias repetidas de influenza. La variación antigénica entre los causantes del resfriado común explica la incapacidad para producir una vacuna eficaz contra los resfriados. En ningún caso conocido es mayor la variación antigénica que en el VIH. Las estimaciones sugieren que el VIH acumula mutaciones a un ritmo 65 veces más rápido que el virus de la influenza. El VIH a su vez es uno de los virus que evade la reacción inmunitaria al producir inmunosupresión generalizada [18].

Virus de Influenza A

El virus de influenza infecta las vías respiratorias superiores y centrales principales de seres humanos, caballos, aves, cerdos e inclusive focas. En el periodo de 1918 a 1919 una pandemia de influenza mató a más de 20 millones de personas.

Un aspecto distintivo del virus de la influenza es su variabilidad. El virus puede cambiar sus antígenos de superficie de manera tan completa que la reacción inmunitaria a la infección con el virus que causó la epidemia previa confiere muy poca o ninguna protección contra el que produce la epidemia subsecuente. La variación antigénica se debe sobre todo a cambios en la hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) que se encuentran en la cubierta viral. Dos mecanismos distintos generan la variación antigénica en HA y NA: deriva génica y recombinación. La deriva génica consiste en mutaciones de punto seriadas que ocurren de manera gradual y ocasionan cambios menores de la HA y NA, éstos explican las diferencias de cepas dentro de un subtipo. La recombinación resulta en la aparición repentina de un nuevo subtipo de influenza en la que HA y tal vez también NA son considerablemente distintas de las del virus identificado en la epidemia precedente. Por lo tanto, cada recombinación encuentra a la población sin preparación inmunitaria y causa brotes importantes de influenza que a veces alcanzan proporciones pandémicas.

Estructura del virus de Influenza A

El virus de influenza A es un virus de ARN. Cada virus contiene 8 moléculas de ARN (8 cromosomas) llamados segmentos 1 a 8 que varían en longitud de nucleótidos de 890 a 2341. Los segmentos 1 a 6 tienen un gen de longitud y codifican la información de una proteína. Los segmentos 7 y 8 comprenden 2 genes que codifican proteínas separadas.

Segmento	Proteína
1	PB2
2	PB1
3	PA
4	HA
5	NP
6	NA
7	M1,M2
8	NS1,NS2

Tabla 1. Proteínas codificadas por el virus de Influenza A

Cada una de las 8 moléculas de ARN forma un complejo con moléculas de nucleoproteína, que empaquetan el ARN en una estructura de hélice. Las nucleoproteínas protegen el ARN del medio y facilitan su duplicación. Alrededor de este núcleo hay una capa estructural de proteína y finalmente una cubierta lipídica. Insertadas en esta membrana están las proteínas virales hemaglutinina y neuraminidasa.

La hemaglutinina se dobla en la forma de una paleta, con un tallo y una esfera. El tallo está anclado en la membrana del virus. Cada molécula de HA se asocia con otras 2 formando un trímero. En la parte superior de cada esfera está el sitio de reconocimiento o unión (receptor de ácido siálico), donde la HA se une a las moléculas de ácido siálico presentes en la superficie de los eritrocitos humanos y las membranas de las células epiteliales del pulmón. Esta es la base de la hemaglutinación cuando los virus se mezclan con los eritrocitos y la entrada de los virus en las células del tracto respiratorio. Los glóbulos rojos no tienen el núcleo necesario para la replicación viral, mientras que las células epiteliales del pulmón sí.

La hemaglutinina es además un objetivo primario para los anticuerpos neutralizantes, por lo que es un aspecto importante en el desarrollo de drogas y vacunas.

A pesar de que varios factores virales pueden determinar la restricción del rango de huéspedes y la patogenicidad de los virus de influenza A, la evidencia reciente sugiere que la HA, el antígeno principal en la superficie viral, es un factor crítico para la transmisión eficiente de humano-humano.

La neuraminidasa, que también sale de la membrana viral, es una enzima compuesta de 4 moléculas que forman un tetrámero en forma de caja. Un tallo delgado es lo que une el tetrámero a la membrana del virus. La NA tiene la habilidad de despegar una molécula de ácido siálico de la superficie de una célula o de un virus, lo que reduce la agregación de muchos virus en una sola célula y de muchos virus entre sí.

Cada virus contiene alrededor de 500 moléculas de HA y 100 moléculas de NA en su superficie lipídica. Los virus de influenza A son normalmente esferas burdas de 90 o 100 nm en diámetro aproximadamente.

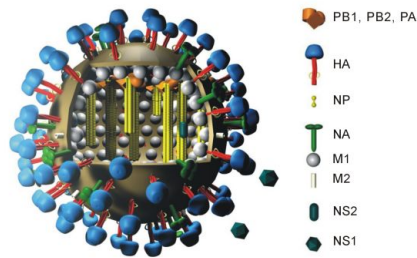


Figura 4. Virus de Influenza A [8]

Replicación del virus de Influenza A

Un virus de influenza A entra al citoplasma por endocitosis. Las vacuolas que contienen a los virus son llevadas a los endosomas que son vesículas ácidas dentro de la célula. En este ambiente de pH bajo, el trímero de HA cambia su forma y se libera la ribonucleoproteína del virus en el citoplasma y posteriormente en el núcleo.

En el núcleo de una célula respiratoria infectada, miles de genes del cromosoma de ADN se transcriben en ARN mensajeros que se procesan y se envían a los ribosomas para sintetizar proteínas. La ribonucleoproteína del virus de influenza A “roba” pequeños pedazos de estos ARN mensajeros de varios genes y los usa como primers para la síntesis de ARN mensajeros de influenza usando los 8 cromosomas de ARN como molde.

La transcripción de ARN es la función de 3 proteínas (PB1, PB2 y PA) estas proteínas forman una transcriptasa de ARN. El complejo polimerasa viral extiende el ARN mensajero sintetizando una molécula híbrida parte huésped (primer) parte viral (extensión). Los ARN mensajeros terminados van a los ribosomas donde son traducidos.

Después de la producción de proteínas virales, los 8 cromosomas virales duplicados en miles de copias son rodeados por proteínas. Finalmente, la ribonucleoproteína migra del núcleo a la membrana plasmática donde se le insertan las proteínas HA y NA. Esta producción de virus continúa por horas hasta que la célula infectada muere.

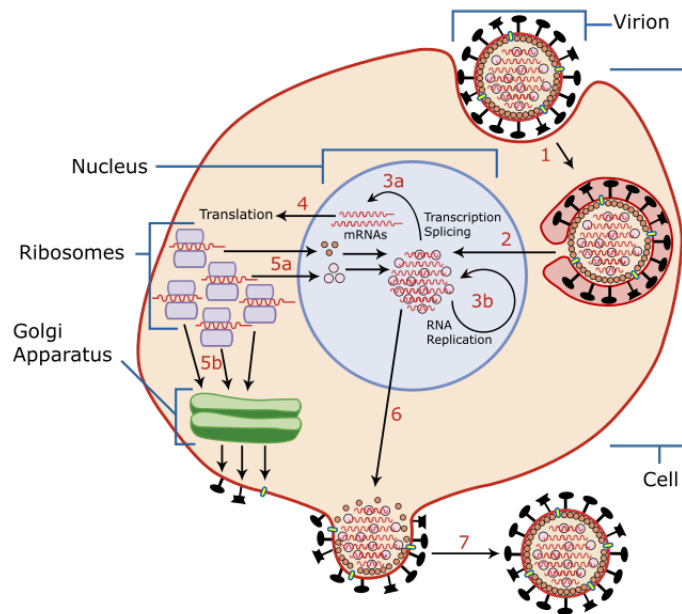


Figura 5. Replicación del virus de Influenza A [7]

Epidemiología del virus de Influenza A

Los anticuerpos contra un virus son muy específicos. Solamente estamos protegidos por anticuerpos contra un virus que hemos encontrado antes. En animales y humanos cuando los anticuerpos reconocen y se unen a un antígeno extraño, lo que reconocen son sitios específicos en la superficie del antígeno llamados epitopos. El anticuerpo reconoce la composición química y forma del epitopo.

En el caso de la influenza A, hay 5 epitopos sobre o cerca de la esfera de la molécula de HA que se sabe unen anticuerpos, lo que entonces neutraliza la infectividad de este virus. Se denominan sitios A, B, C, D y E.

A veces, las moléculas de HA de 2 virus diferentes difieren en 1 o 2 epitopos pero son similares en los demás. Hay veces en que la mayoría o todos los 5 sitios son diferentes. En estos casos se sigue tratando de un virus de influenza A: tiene HA que une ácido siálico, NA y las demás proteínas. La única diferencia es que su HA no une anticuerpos producidos contra la HA de otro subtipo diferente. Por lo que se han identificado diferentes subtipos del virus de influenza A. Cada vez que se encontró un anticuerpo específico para un subtipo de HA diferente se le dio un número: H1 a H16. Éstos son diferentes inmunológica y genéticamente. De la misma forma, cada vez que se encontró un anticuerpo específico para un subtipo NA diferente se le dio un número: N1 a N9. De modo que diferentes virus pueden ser caracterizados como por ejemplo H1N1 o H2N6. De acuerdo con la nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud cada cepa de

virus se define por su hospedero animal de origen (especificado si es distinto al hombre), su origen geográfico, el número de cepa, el año de su aislamiento y su descripción antigénica de HA y NA. Por ejemplo, A/Sw/Iowa/15/30 (H1N1) designa el aislamiento de la cepa A15 que se identificó en cerdos (“swine”) en Iowa en 1930 y que tiene los subtipos antigénicos 1 de HA y NA.

Los virus que llevan los subtipos HA: H1, H2 y H3 se han establecido exitosamente en humanos, causando en cada caso una pandemia mayor:

- 1918 H1N1 (gripe española)
- 1957 H2N2 (gripe asiática)
- 1968 H3N2 (gripe Hong Kong)
- 2009 H1N1

A pesar de que la población conserva durante su vida inmunidad al antígeno HA de la cepa que lo infectó en el pasado, el nuevo subtipo cambia su HA de modo que los anticuerpos ya no reaccionan con los epitopos de ésta. De alguna forma la nueva cepa cambió 5 o más sitios en la molécula de HA simultáneamente.

Debido a que los receptores de ácido siálico son comunes en todas las especies, no es sorpresa que el virus de influenza A pueda entrar en las células de diferentes animales y replicarse. Supongamos que un virus humano H3N8 infecta a un pato que lleva una cepa H1N1 y que ambos subtipos infectan la misma célula. El virus humano lleva sus 8 cromosomas de ARN. Llamémoslos: 1h-8h. El virus del pato lleva también sus 8 cromosomas de ARN: 1p-8p. Los cromosomas 1h y 1p están relacionados pero no son iguales. Los genes p producen una cepa que crece mejor en patos, mientras que los genes h producen un virus que se reproduce bien en los pulmones humanos. Cuando ambos virus se encuentran en la misma célula en el pulmón del pato, producen las 10 proteínas virales humanas y de pato respectivamente (20 en total) y luego replican los 8 cromosomas respectivos que constituyen el genoma viral de la influenza A de humanos y patos. Cuando los cromosomas recién copiados se empaquetan en partículas de virus, los 8 segmentos de ARN h y los 8 segmentos de ARN p (16 en total) pueden acomodarse de manera independiente y colocarse en diferentes partículas de virus. Imaginemos que un virus contiene por ejemplo los segmentos: 1h, 2h, 3h, 4p, 5h, 6p, 7h, 8h. Seis de los cromosomas en este virus son de humano (H3N8) y 2 son de pato (H1N1). Dado que la mayoría de los genes proviene de la cepa humana, el virus se replicará bastante bien en humanos. Además, esta nueva cepa H1N1 está en una población donde los humanos han sido infectados con un subtipo H3N8, por lo que no tienen inmunidad hacia él.

Se ha demostrado entonces que diferentes cepas de influenza A pueden infectar la misma célula y que los cromosomas de ARN de estos subtipos se pueden colocar independientemente en diferentes partículas de virus. El reacomodo genético de virus de influenza A se ha observado en humanos también.

Ocasionalmente, subtipos de influenza A humanos y animales inician infecciones mixtas, de donde pueden surgir un gran número de posibles cepas que contienen diferentes combinaciones de información genética de ambos subtipos.

Algunas de estas combinaciones se seleccionan por su habilidad de presentar un nuevo antígeno HA a huéspedes previamente inmunizados con un subtipo HA diferente. Mientras exista una fuente de genes HA con la que no se hayan topado los humanos previamente, pueden surgir nuevas cepas pandémicas.

El proceso evolutivo se ha acelerado por la habilidad que tiene el virus de influenza A de reacomodar los genes rápidamente y por la existencia de reservorios animales que pueden usarse para tener nuevas combinaciones genéticas. Como resultado, el virus de influenza A tiene muchas oportunidades de sobrevivir y florecer alrededor del mundo.

Estos cambios antigénicos explican pandemias, pero no las epidemias locales constantes de influenza A que ocurren entre los años pandémicos. Una vez que un nuevo subtipo de virus causa infecciones alrededor del mundo, los siguientes años ese subtipo reinfecta algunos individuos previamente infectados. Es decir, los virus dentro de un subtipo dado (H1N1 por ejemplo) parecen cambiar a través del tiempo. Con algunas excepciones, los anticuerpos reconocen como más cercanos los virus que están en circulación al mismo tiempo. Lo que puede suceder es una serie de mutaciones en el gen HA. Consideremos virus producidos con mutaciones en los epitopos A y B. Estas mutaciones surgieron secuencialmente en el mismo virus. De forma que ahora el virus reacciona muy poco con el anticuerpo de un huésped previamente inmunizado. Es así como el huésped, desarmado, puede volver a infectarse con la nueva cepa de virus de influenza A. La alteración de 1 o 2 epitopos de HA se conoce como deriva génica en contraste con la recombinación (el cambio completo del segmento de ARN viral que codifica la proteína HA). Ahora el virus circulante tiene una gran variabilidad genética y la respuesta inmune del hospedero es variable también. Algunas personas pueden reinfectarse con un virus de influenza A que ha mutado en un solo epitopo: A, B, C, D o E.

Es así como en respuesta al obstáculo impuesto por el sistema inmune de sus hospederos, el virus de influenza A ha desarrollado 2 modos de cambio fundamentales: recombinación y deriva génica.

Pandemia de Influenza A H1N1 2009

La infección que originó la epidemia de influenza A en el año 2009 es causada por una variante de la cepa H1N1, con material genético proveniente de una cepa aviaria, dos cepas porcinas y una humana que sufrió una mutación y dio un salto entre especies (o heterocontagio) de los cerdos a los humanos, para después dar lugar al contagio de persona a persona. El 11 de junio de 2009 la OMS clasificó la epidemia como de nivel de alerta seis; es decir, "pandemia en curso". Para poder clasificar una epidemia en dicho nivel, debe haber brotes comunitarios (ocasionados localmente sin la presencia de una persona infectada proveniente de la región del brote inicial). Este nivel de alerta no se relaciona con la gravedad de la enfermedad producida por el agente patógeno, sino por la extensión geográfica que abarca la epidemia. El 10 de agosto de 2010 la OMS anunció el fin de la pandemia, 14 meses después y luego de haberle dado la vuelta al mundo. La pandemia tuvo una mortalidad baja, en contraste con su amplia distribución. En las figuras 6 y 7 se muestra comparativamente de manera global la evolución de la epidemia en tres etapas: unos cuantos días después de declarada la contingencia en México, un mes después y un año después.

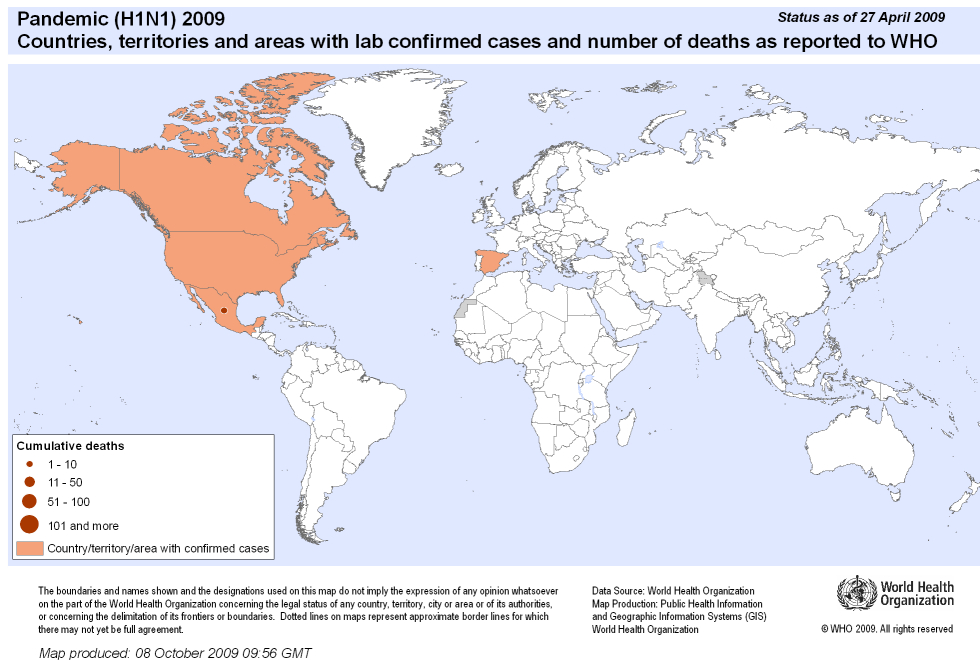
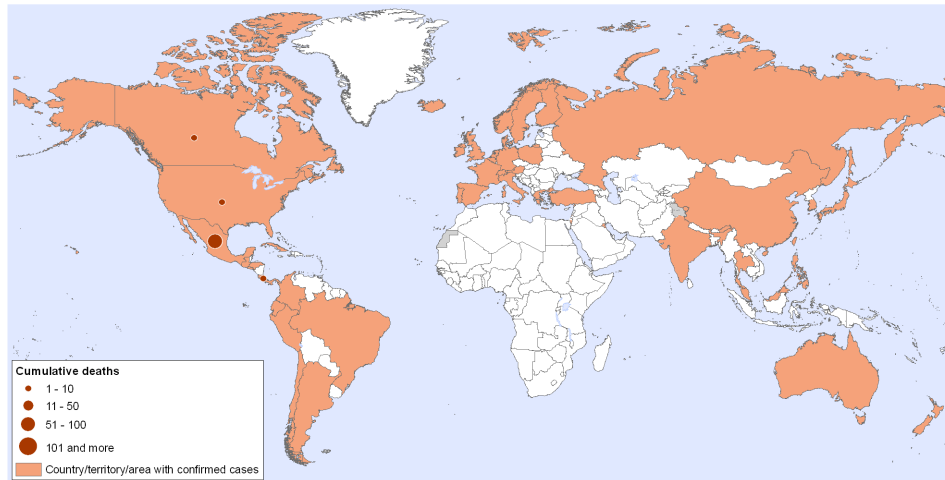


Figura 6. Casos confirmados y muertes debidas a la pandemia de influenza A H1N1 al 27 de abril de 2009 [9]

Pandemic (H1N1) 2009

Status as of 27 May 2009

Countries, territories and areas with lab confirmed cases and number of deaths as reported to WHO



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: World Health Organization
Map Production: Public Health Information and Geographic Information Systems (GIS)
World Health Organization

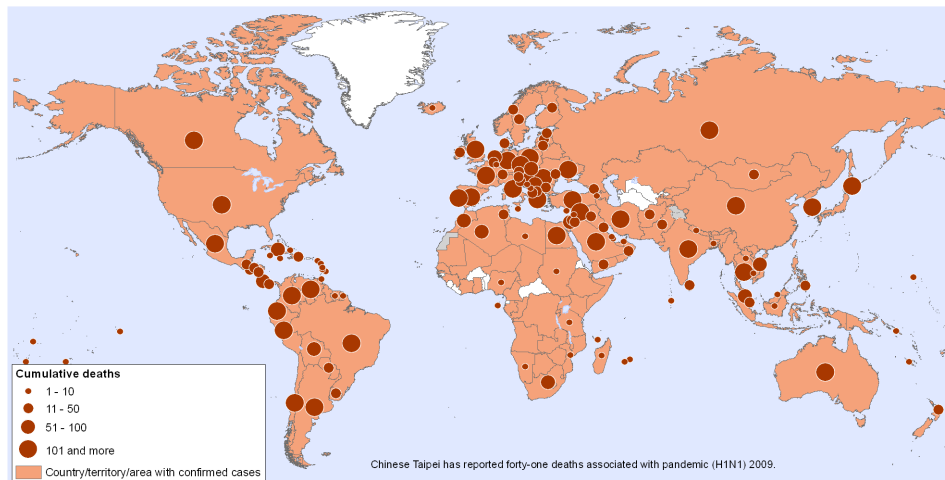
World Health Organization
© WHO 2009. All rights reserved

Map produced: 08 October 2009 09:56 GMT

Pandemic (H1N1) 2009

Status as of 25 April 2010

Countries, territories and areas with lab confirmed cases and number of deaths as reported to WHO



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: World Health Organization
Map Production: Public Health Information and Geographic Information Systems (GIS)
World Health Organization

World Health Organization
© WHO 2010. All rights reserved

Map produced: 28 April 2010, 13:45 GMT

Figura 7. Casos confirmados y muertes debidas a la pandemia de influenza A H1N1 al 27 de mayo de 2009 y al 25 de abril de 2010 [9]

Modelo de la interacción del virus de Influenza A con el sistema inmune y células del tracto respiratorio

En este capítulo se sientan las bases para desarrollar un enfoque celular en el estudio de la dinámica del virus de influenza A. Para ello se discuten brevemente trabajos anteriores donde se presentan diversas alternativas para entender la dinámica infecciosa. A continuación se plantea el modelo a estudiar que involucra las poblaciones viral, epitelial e inmune así como los parámetros y una descripción del método utilizado.

Antecedentes

Los procesos básicos virales e inmunes de una infección típica de influenza en humanos se llevan a cabo en varios órganos e involucran diversos sistemas. Está establecido que las interacciones virus-células epiteliales están confinadas al compartimento de epitelio del pulmón en las partes superiores y centrales de las vías respiratorias. La activación, proliferación y diferenciación de células inmunocompetentes está localizada en tejido linfático asociado a pulmón. Los procesos de muerte de células infectadas por medio de células T y la neutralización de virus de influenza por anticuerpos se dan en el espacio mucoso de las partes superiores y centrales de las vías respiratorias (ver figura 8).

Esta dinámica ha sido descrita, entre otros, en el trabajo de Bocharov y Romanyukha [1] donde se modifica y extiende el sistema de ecuaciones del modelo matemático de la respuesta inmune antiviral, aplicado anteriormente a la infección aguda del virus de hepatitis B (Marchuk 1991), para describir cuantitativamente los mecanismos principales de una infección de influenza A. El modelo considera los componentes celular y humoral antígeno-específicos y los componentes interferón como respuesta inmune antiviral. De modo que el modelo matemático desarrollado permite tener referencias directas con la realidad biológica. La contribución de los parámetros virus-tejido sensible, interferon y procesos inmunes específicos del virus de influenza A a las variaciones de la duración y gravedad de la infección se estiman cuantitativamente con estudios de sensibilidad. Se muestra que las variaciones en los parámetros del sistema virus-célula epitelial son los más influyentes en la gravedad de la infección, más que aquellos de la respuesta inmune antiviral.

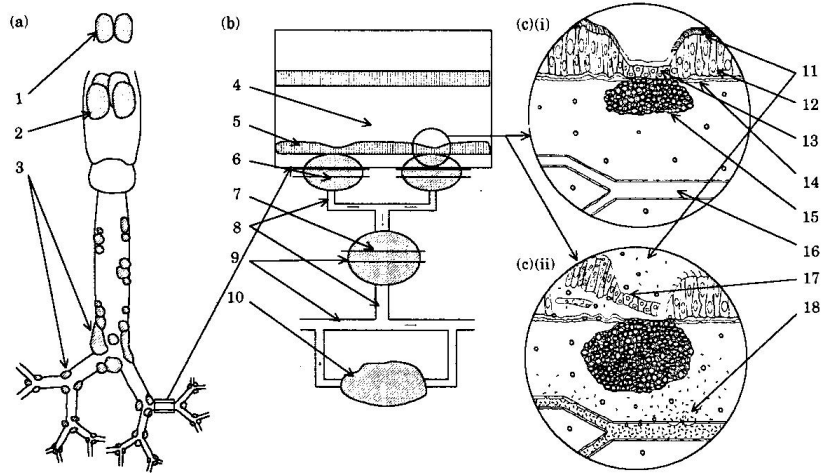


Figura 8. Esquema de la organización espacial de los procesos de defensa durante una infección viral del sistema respiratorio humano [1] **a)** Tejido linfoide asociado a pulmón 1. adenoides 2. amígdalas 3. tejido linfoide asociado a bronquios **b)** Bronquios y tejido linfoide asociado a bronquios 4. lumen de los bronquios 5. epitelio ciliado 6. nódulo linfático 7. nodo linfático 8. vasos linfáticos 9. vasos sanguíneos 10. bazo **c)** i) Estado normal de la pared bronquial ii) Estado patológico de la pared bronquial 11. mucosa y fluido del revestimiento de las vías respiratorias 12. epitelio ciliado 13. linfoepitelio 14. membrana basal 15. nódulo linfático 16. vaso sanguíneo 17. daño al epitelio inducido por virus 18. infiltración y exudación del capilar

Similar a este trabajo se encuentra el de Hancioglu et.al. [2] en el que se presenta un modelo dinámico simplificado de la respuesta inmune a una infección sencilla de influenza A, que se enfoca en el control de la infección por medio de la inmunidad innata y adaptativa. La inmunidad innata está representada por la resistencia a la infección de células epiteliales respiratorias inducida por interferon y por la eliminación de células infectadas gracias a células efectoras (células T citotóxicas y células asesinas naturales). La inmunidad adaptativa está representada por anticuerpos específicos contra el virus. En este caso, se explora el efecto de la carga viral inicial en la gravedad y duración de la enfermedad y se realizó un análisis de sensibilidad sobre los parámetros del modelo para explorar cuales tienen mayor influencia en el comienzo, duración y gravedad de la infección. Los resultados muestran que la respuesta inmune cae en una de las siguientes 3 categorías dependiendo de la carga viral inicial: enfermedad asintomática, enfermedad típica y enfermedad severa. De igual forma, una virulencia alta corresponde en este modelo a valores grandes de los parámetros que caracterizan la tasa de infección de células epiteliales y la tasa de secreción de partículas de virus por las células epiteliales infectadas. El análisis de sensibilidad sugiere también que la respuesta innata es una línea de defensa no específica temprana importante.

En el trabajo de Baccam et.al. [3] por su parte, se utilizan una serie de modelos matemáticos, cuya complejidad incrementa, que incorporan limitación de células blanco. Los modelos se ajustaron a datos experimentales de una infección de influenza H1N1 y muestran que tanto en el modelo simple como en el que se maneja un retraso en la producción de virus, la infección desaparece sin la acción de interferon o del sistema inmune. La recuperación de la infección en este modelo es consecuencia de la limitación de células blanco. Se muestra que cerca del pico de la carga viral la mayoría de las células blanco ha sido eliminada. Esto pareciera excluir la posibilidad de que la infección dure de 6 a 8 días, tal como se observa. Sin embargo, a pesar de las pocas células blanco restantes, el modelo puede efectivamente sostener la infección hasta 6 a 8 días. El daño causado a las células epiteliales durante una infección de influenza es difícil de estimar. Romanyukha sugiere que en el pico de la infección entre 30 y 50 % de las células epiteliales en el tracto respiratorio superior son destruidas. Aquí se encontró que la fracción de células muertas en el pico de la carga viral estaba entre 37 y 66 %.

Lee y colaboradores [4] presentaron a su vez un trabajo en el que se muestra un modelo matemático de 2 compartimentos (pulmón y sistema linfático) que cuantifica la interacción entre la replicación viral y la inmunidad adaptativa. Se evalúan las contribuciones individuales de: presentación de antígeno, ayuda de células T CD4, citotoxicidad mediada por células T CD8, células B y anticuerpos, para controlar la infección del virus de influenza A. El modelo representa resultados experimentales publicados sobre la infección del virus de influenza y se usó para generar diferentes escenarios de respuesta inmune. El modelo predice que las drogas que limitan la infección viral y/o la producción viral deben ser administradas dentro de los primeros 2 días de infección, con un beneficio de combinación de terapia cuando se administra tempranamente. También que las células T CD8 citotóxicas en el pulmón son tan efectivas para la desaparición viral como los anticuerpos neutralizantes al momento que se presenta la infección. Además se hizo un análisis de sensibilidad para determinar que parámetros tienen una mayor influencia para desaparecer el virus.

Posteriormente, Mitchell et.al. [5] comparan diferentes cepas de virus de influenza (H5N1 aviar, H1N1 estacional y H1N1 2009 pandémica) infectando células epiteliales bronquiales humanas. Se utilizaron ecuaciones diferenciales y modelos computacionales para caracterizar la cinética in vitro de estas 3 cepas. Los modelos fueron calibrados ajustando los datos experimentales para estimar parámetros difíciles de medir. Los resultados de ambos enfoques reproducen adecuadamente los datos experimentales para cada cepa de influenza. No hubo gran diferencia en la tasa de infección entre las cepas, lo cual es consistente con la hipótesis de que las diferencias en la productividad de cada cepa son función de la eficiencia de replicación intracelular, no de la eficiencia de entrada a la célula o la selectividad.

Modelo Matemático

A continuación se describe el modelo de la respuesta inmune contra la infección del virus de influenza, que toma en cuenta los antecedentes mencionados. La infección empieza cuando los virus de influenza (V) entran al tracto respiratorio del hospedero e infectan células epiteliales (E_P) dentro de las vías respiratorias y el parénquima pulmonar. A continuación, la infección estimula que las células dendríticas inmaduras (D_i) presentes en el pulmón adquieran virus y se conviertan en células dendríticas con virus (D^*) capaces de presentar antígeno a células T y B. Las células dendríticas con virus capaces de preparar células colaboradoras, citotóxicas y secretadoras de anticuerpo se convierten en células maduras (D_M) que activan células T CD8 inmaduras (T_N) las que a su vez se diferencian en células T efectoras (T_E). Las T_E eliminan células epiteliales infectadas (E_P^*). Las D_M activan también células T CD4 inmaduras (H_N) que se diferencian en células T CD4 efectoras (H_E). La activación de células B inmaduras (B_N) requiere de D_M y H_E para tener células B activadas (B_E). Se considera también 2 poblaciones separadas de células secretadoras de anticuerpo (A), de corta (P_S) y larga vida (P_L). Estas interacciones fueron utilizadas en la construcción de un sistema de 15 ecuaciones diferenciales ordinarias que describen la dinámica de las variables principales que se encuentran en la tabla 2, y corresponden a los componentes de la respuesta inmune mostrados en la figura 9.

Las ecuaciones diferenciales del modelo que describen los eventos en el pulmón son:

$$\frac{d}{dt}E_P = \delta_E(E_0 - E_P) - \beta_E E_P V, \quad (1)$$

$$\frac{d}{dt}E_P^* = \beta_E E_P V - k_E E_P^* \gamma T_E - \delta_{E^*} E_P^*, \quad (2)$$

$$\frac{d}{dt}V = \pi_V E_P^* - c_V V - k_V V A, \quad (3)$$

$$\frac{d}{dt}D_i = \delta_D(D_0 - D_i) - \beta_D D_i V, \quad (4)$$

$$\frac{d}{dt}D^* = \beta_D D_i V - \delta_{D^*} D^*. \quad (5)$$

En el compartimento linfático son:

$$\frac{d}{dt}D_M = k_D D^* - \delta_{DM} D_M, \quad (6)$$

$$\frac{d}{dt}H_N = \delta_{HN}(H_{N0} - H_N) - \pi_H D_M H_N, \quad (7)$$

$$\frac{d}{dt}H_E = \pi_H D_M H_N + \rho_H D_M H_E - \delta_H D_M H_E, \quad (8)$$

$$\frac{d}{dt}T_N = \delta_{TN}(T_{N0} - T_N) - \pi_T D_M T_N, \quad (9)$$

$$\frac{d}{dt}T_E = \pi_T D_M T_N + \rho_T D_M T_E - \delta_T D_M T_E, \quad (10)$$

$$\frac{d}{dt}B_N = \delta_B(B_{N0} - B_N) - \pi_B D_M B_N, \quad (11)$$

$$\frac{d}{dt}B_E = \pi_B D_M B_N + \rho_B(D_M + hH_E)B_E - \delta_{BA}B_E - \pi_S B_E - \pi_L H_E B_E, \quad (12)$$

$$\frac{d}{dt}P_S = \pi_S B_E - \delta_S P_S, \quad (13)$$

$$\frac{d}{dt}P_L = \pi_L H_E B_E - \delta_L P_L, \quad (14)$$

$$\frac{d}{dt}A = \pi_{AS}P_S + \pi_{AL}P_L - \delta_A A. \quad (15)$$

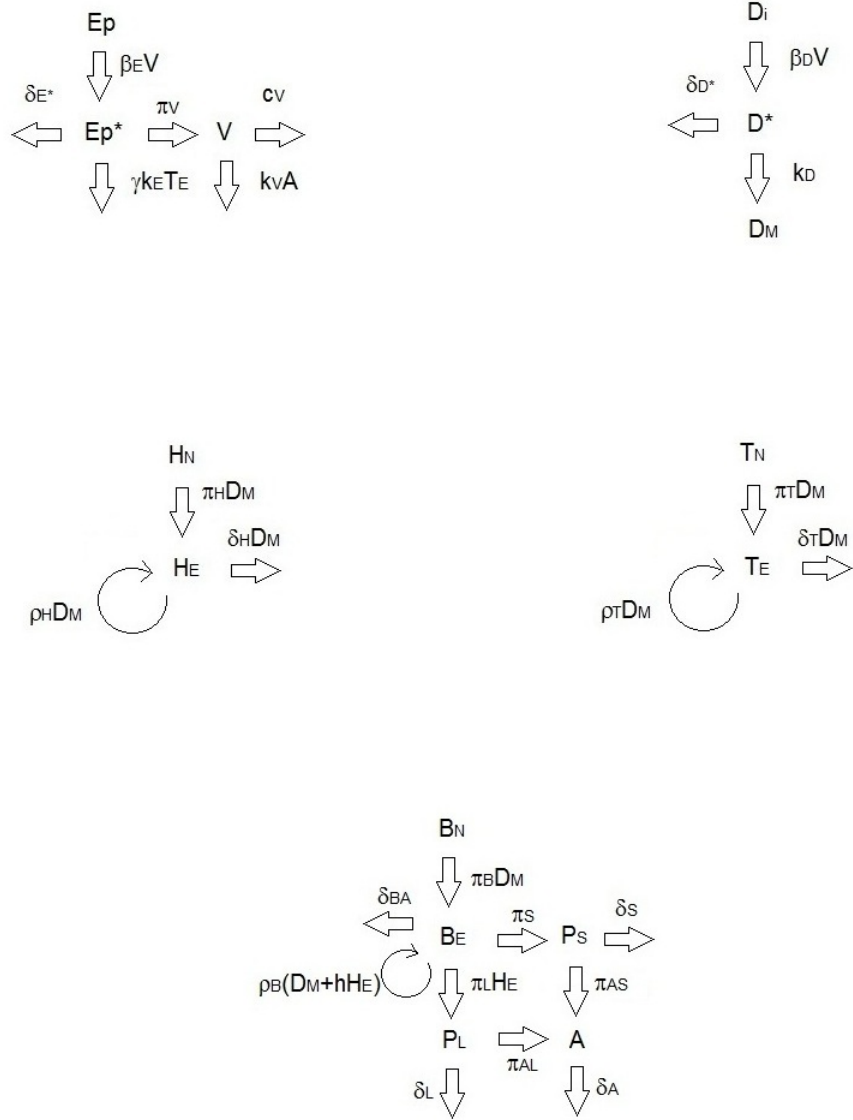


Figura 9. Diagrama del proceso de infección y la respuesta inmune correspondiente

El sistema de ecuaciones del modelo involucra una gran cantidad de parámetros, inherentes a procesos fisiológicos y de la interacción viral y celular. Estos han sido escogidos para reproducir resultados experimentales y se encuentran en la tabla 2. De igual forma en la tabla se encuentran definidas las poblaciones iniciales de virus y demás células involucradas.

Tabla 2. Definiciones de las variables y parámetros del modelo y sus valores iniciales [4]

Variable	Definición	Valor Inicial
E_P	Células epiteliales no infectadas	5×10^5
E_P^*	Células epiteliales infectadas	0
V	Virus	10
D_i	Células dendríticas inmaduras	10^3
D^*	Células dendríticas con virus	0
D_M	Células dendríticas maduras	0
H_N	Células T CD4 inmaduras	10^3
H_E	Células T CD4 efectoras	0
T_N	Células T CD8 inmaduras	10^3
T_E	Células T CD8 efectoras	0
B_N	Células B inmaduras	10^3
B_E	Células B activadas	0
P_S	Células secretadoras de anticuerpo de corta vida	0
P_L	Células secretadoras de anticuerpo de larga vida	0
A	Anticuerpo antiviral	110.2

Parámetro	Definición	Valor
E_0	Número inicial de células epiteliales	5×10^5
δ_E	Tasa de muerte de las células epiteliales no infectadas ($día^{-1}$)	10^{-3}
β_E	Tasa de infección de células epiteliales [$día^{-1} (EID_{50}/ml)^{-1}$]	7×10^{-5}
δ_{E^*}	Tasa de muerte de células epiteliales infectadas ($día^{-1}$)	1.2
k_E	Tasa de muerte de células epiteliales infectadas debida a células T CD8 ($día^{-1}$)	1.19×10^{-3}
γ	Factor de migración de células T CD8	0.15
π_V	Tasa de producción de virus por células epiteliales infectadas [$(EID_{50}/ml) día^{-1}$]	1.9
c_V	Tasa de desaparición (clearance) del virus ($día^{-1}$)	1
k_V	Tasa de neutralización de virus por anticuerpos ($día^{-1} titer^{-1}$)	4×10^{-3}
D_0	Número inicial de células dendríticas	10^3
δ_D	Tasa de muerte de células dendríticas ($día^{-1}$)	10^{-3}
β_D	Tasa de infección de células dendríticas [$día^{-1} (EID_{50}/ml)^{-1}$]	10^{-2}
δ_{D^*}	Tasa de muerte de células dendríticas infectadas ($día^{-1}$)	2.9
k_D	Tasa de procesamiento de antígeno ($día^{-1}$)	200
δ_{DM}	Tasa de muerte de células dendríticas maduras ($día^{-1}$)	0.5
H_{N0}	Número inicial de células T CD4 inmaduras	10^3
δ_{HN}	Tasa de muerte de células T CD4 inmaduras ($día^{-1}$)	2×10^{-3}
π_{H1}	Tasa de activación máxima de células T CD4 inmaduras ($día^{-1}$)	1.5
π_{H2}	Número de cél D_M para la mitad de la activación máxima de cél H_N	10^2
ρ_{H1}	Tasa de proliferación máxima de células T CD4 efectoras ($día^{-1}$)	1.51
ρ_{H2}	Número de cél D_M para la mitad de la proliferación máxima de cél H_N	4×10^3
δ_{H1}	Tasa de desaparición máxima de células T CD4 efectoras ($día^{-1}$)	0.4
δ_{H2}	Número de cél D_M para la mitad de la desaparición máxima de cél H_N	1
T_{N0}	Número inicial de células T CD8	10^3
δ_{TN}	Tasa de muerte de células T CD8 inmaduras ($día^{-1}$)	2×10^{-3}
π_{T1}	Tasa de activación máxima de células T CD8 ($día^{-1}$)	3
π_{T2}	Número de cél D_M para la mitad de la activación máxima de cél T_N	10^2
ρ_{T1}	Tasa de proliferación máxima de células T CD8 efectoras ($día^{-1}$)	2.6
ρ_{T2}	Número de cél D_M para la mitad de la proliferación máxima de cél T_E	4×10^3
δ_{T1}	Tasa de desaparición máxima de células T CD8 efectoras ($día^{-1}$)	0.75
δ_{T2}	Número de cél D_M para la mitad de la desaparición máxima de cél T_E	1
B_{N0}	Número inicial de células B inmaduras	10^3
δ_B	Tasa de muerte de células B inmaduras ($día^{-1}$)	2×10^{-3}
π_{B1}	Tasa de activación máxima de células B inmaduras ($día^{-1}$)	3
π_{B2}	Número de cél D_M para la mitad de la activación máxima de cél B_N	10^4
ρ_{B1}	Tasa de proliferación máxima de células B activadas ($día^{-1}$)	2.6
ρ_{B2}	Número de cél D_M para la mitad de la proliferación máxima de cél B_E	4×10^3
δ_{BA}	Tasa de desaparición de células B activadas ($día^{-1}$)	0.9
π_S	Tasa de diferenciación de B_E en P_S ($día^{-1}$)	10^{-3}
π_L	Tasa de diferenciación de B_E en P_L ($día^{-1}$)	8×10^{-9}
δ_S	Tasa de muerte de P_S ($día^{-1}$)	0.1
δ_L	Tasa de muerte de P_L ($día^{-1}$)	3×10^{-2}
π_{AS}	Tasa de secreción de anticuerpo por P_S ($día^{-1}$)	0.06
π_{AL}	Tasa de secreción de anticuerpo por P_L ($día^{-1}$)	0.8
δ_A	Tasa de desaparición de anticuerpo ($día^{-1}$)	0.04

Los parámetros π_H , ρ_H y δ_H se obtienen de la siguiente manera:

$$\pi_H = \frac{\pi_{H1}}{D_M + \pi_{H2}}, \quad (16)$$

$$\rho_H = \frac{\rho_{H1}}{D_M + \rho_{H2}}, \quad (17)$$

$$\delta_H = \frac{\delta_{H1}}{D_M + \delta_{H2}}. \quad (18)$$

De igual forma se obtienen π_T , ρ_T , δ_T , π_B y ρ_B a partir de sus respectivos parámetros.

Para caracterizar la dinámica del sistema se obtuvieron soluciones numéricas del sistema de ecuaciones con los valores iniciales de las variables y los valores de los parámetros en la tabla 2. Para obtener tales soluciones se utilizó un solucionador general numérico de ecuaciones diferenciales: *NDSolve* de *Mathematica*_(R), el cual puede manejar un gran rango de ecuaciones diferenciales ordinarias, así como ecuaciones diferenciales parciales.

El programa representa aproximaciones numéricas a funciones como objetos de una función interpoladora. Estos objetos son funciones que, cuando se aplican a un tiempo particular t , regresan el valor aproximado de la función $x(t)$ en ese punto. La función interpoladora almacena eficientemente una tabla de valores para $x(t_i)$, luego interpola esta tabla para encontrar una aproximación a $x(t)$ en el tiempo particular t que se solicitó.

En general, el programa encuentra soluciones iterativamente. Empieza en un valor particular de t , luego hace una secuencia de pasos, tratando de cubrir eventualmente el rango completo t_{min} a t_{max} . Para poder empezar se requieren las condiciones iniciales o de frontera apropiadas para las $x(t)$ y sus derivadas y se puede usar para resolver sistemas de ecuaciones diferenciales acopladas siempre que cada variable tenga el número adecuado de condiciones.

Como se mencionó anteriormente, el programa trabaja tomando una secuencia de pasos en la variable independiente t y utiliza un procedimiento adaptativo para determinar el tamaño de estos pasos. Generalmente, si la solución parece variar rápidamente en una región particular, entonces reducirá el tamaño del paso para poder localizar mejor la solución. A pesar de su procedimiento adaptativo es capaz de resolver ecuaciones diferenciales donde hay múltiples componentes que varían con t a tasas muy diferentes. Continúa el procedimiento general de reducir el tamaño del paso hasta que alcanza las soluciones adecuadamente.

El programa tiene varios métodos intrínsecos diferentes para calcular soluciones, así como un mecanismo para métodos adicionales. Con la versión default *Método* \rightarrow *Automático*, se elige un método que sea apropiado para las ecuaciones diferenciales a considerar. Los métodos consisten de variaciones del método iterativo RungeKutta. En general, no es posible determinar la naturaleza de las soluciones de ecuaciones diferenciales sin de hecho resolverlas, por lo que los métodos automáticos por default son buenos para resolver una gran variedad de problemas.

De modo que cuando el programa utilizado calcula una solución, hay típicamente tres fases. Primero, las ecuaciones son procesadas, usualmente en una función que representa el lado derecho de las ecuaciones en forma normal. Luego, la función se usa para iterar la solución de las condiciones iniciales. Finalmente, la información guardada durante el proceso de iteración se procesa en una o más funciones interpoladoras.

La estructura de las ecuaciones del modelo utilizado es tal que *Mathematica*_(R) permite una forma muy completa de la solución del problema en estudio. Gracias a los gráficos permite primeramente obtener los comportamientos de las variables del modelo a lo largo del tiempo. Asimismo permite llevar a cabo con facilidad variaciones en los parámetros del sistema, por lo que en la primera parte se hace un análisis detallado de éstos, así como variaciones menores en la forma de las ecuaciones, lo que lleva a incluir términos de terapia o factores de recuperación y observar las modificaciones en el comportamiento. De igual forma permite llevar a cabo un análisis con un enfoque diferente: el espacio fase, considerando ahora la relación entre grupos de variables. Dada la naturaleza del proceso iterativo de solución permitió también considerar las soluciones a tiempos largos y observar los cambios correspondientes.

Resultados

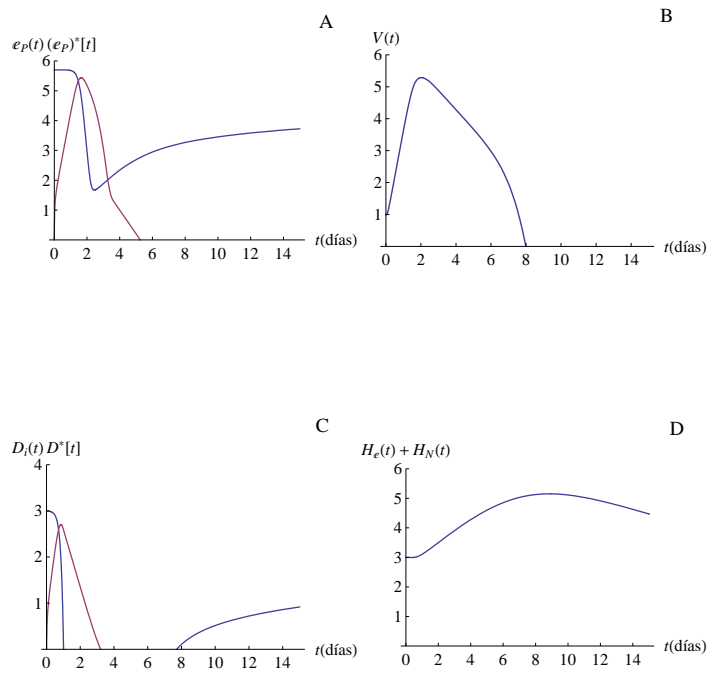
En esta sección se presentan resultados derivados del sistema de ecuaciones 1-15 que describen la dinámica de las poblaciones virales, celulares y de componentes del sistema inmune involucradas en la infección por el virus de influenza A. A continuación, se realiza un análisis de cómo se modifica la dinámica al cambiar los parámetros más relevantes. Posteriormente, se examina el efecto de drogas antivirales. También se realiza un estudio en el espacio fase definido por las variables del modelo. Finalmente se presentan los resultados de considerar la dinámica de la infección a largo plazo.

Dinámica celular y viral

La dinámica de las poblaciones involucradas en la infección por el virus de influenza A se presenta en la figura 10. Debido al amplio intervalo de variabilidad de las poblaciones, los resultados se muestran en escala logarítmica (notemos que son permisibles aún valores negativos en esta escala). Dado que estos resultados reproducen los presentados en la referencia [4] juegan el papel de control en nuestro estudio.

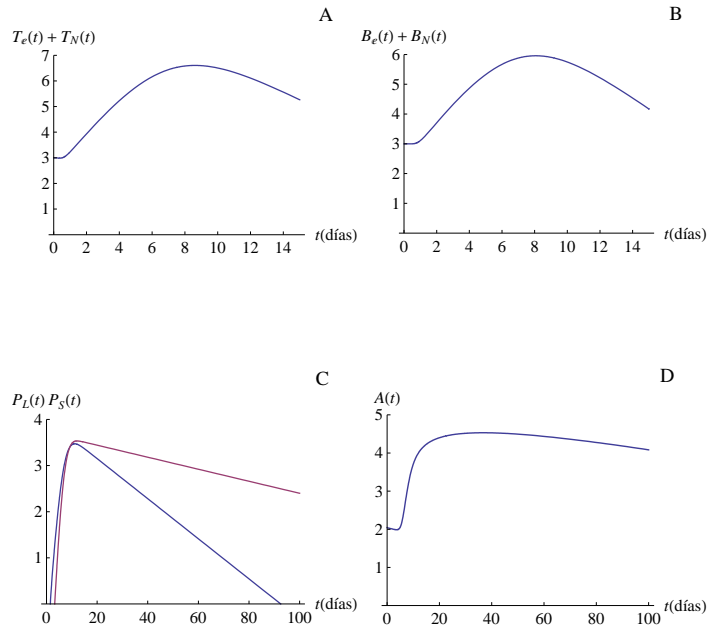
En la figura 10A se muestra la población de células epiteliales infectadas y no infectadas. Se puede observar cómo el número de células epiteliales no infectadas disminuye más de tres órdenes de magnitud en los primeros dos días de la enfermedad y le sigue una lenta recuperación. Esta aproximación no es realista pues implicaría una situación letal para el paciente. Se muestra también que se alcanza el máximo en las células epiteliales infectadas el segundo día después de la infección, tal como para la carga viral (10B). Un comportamiento semejante se observa para el caso de las células dendríticas inmaduras e infectadas (10C). Por otro lado, se muestra que las poblaciones de células T (10D, 11A), al igual que las células B (11B) alcanzan su máximo alrededor del día ocho. Esto es consistente con los tiempos característicos de la respuesta inmune adaptativa. También se muestra, considerando un tiempo más largo (alrededor de 100 días), las poblaciones de células secretadoras de anticuerpo, así como los anticuerpos mismos (11C y 11D).

Estos resultados nos hacen pensar que si bien se obtienen comportamientos cualitativos esperados en la dinámica de la infección, es necesario realizar un estudio cuidadoso de los parámetros involucrados que conduzca a una descripción realista de la dinámica que eventualmente dé lugar a sugerencias terapéuticas o de prevención factibles.



- A: ● Células epiteliales no infectadas ● Células epiteliales infectadas
 B: Carga viral
 C: ● Células dendríticas inmaduras ● Células dendríticas infectadas
 D: Células T CD4 inmaduras y efectoras

Figura 10. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones involucradas en la infección por el virus de influenza A



A: Células T CD4 inmaduras y efectoras
 B: Células B inmaduras y activadas
 C: ● Células secretadoras de anticuerpo de corta vida ● Células secretadoras de anticuerpo de larga vida
 D: Anticuerpo

Figura 11. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones involucradas en la infección por el virus de influenza A

En particular nos enfocaremos al estudio a la dinámica de las células epiteliales no infectadas (sanas), aquellas infectadas y la carga viral, ya que estas poblaciones presentan cambios drásticos y es justamente entre ellas donde inicia la infección.

Uno de los parámetros de mayor interés es la tasa de infección de las células epiteliales β_E . En el modelo presentado se considera una tasa de infección constante, por lo que se investigaron valores de β_E mayores y menores al control.

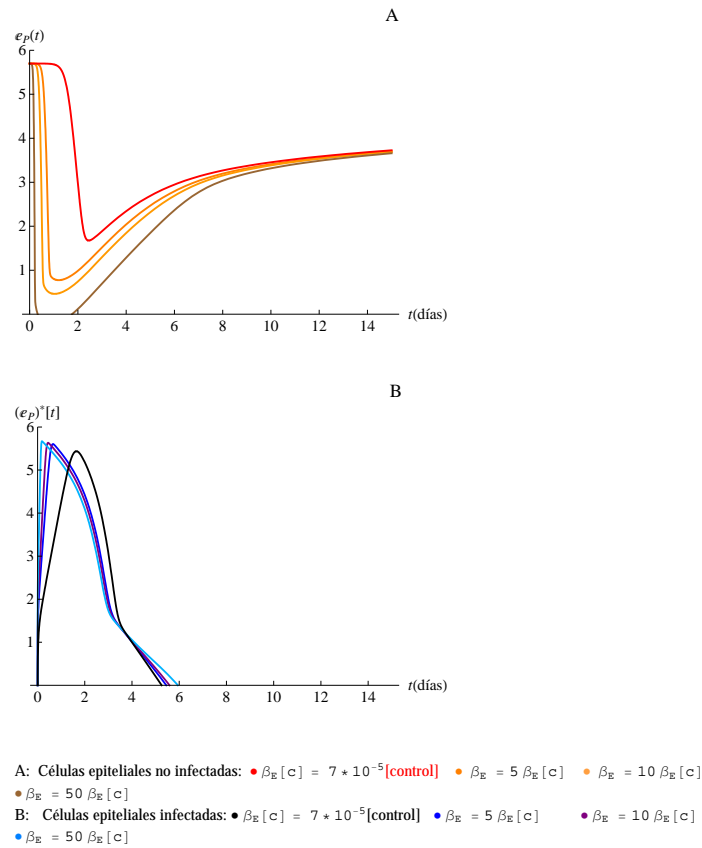


Figura 12. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las células epiteliales no infectadas e infectadas al considerar una tasa de infección de células epiteliales mayor

En la figura 12 se puede observar que con una tasa de infección de $\beta_E = 10\beta_E[c]$ o mayor el número de células epiteliales no infectadas disminuye casi en su totalidad en los primeros 2 días. Adicionalmente se observa una lenta recuperación que en todos los casos tiende al mismo valor. Como consecuencia para todos los casos las células epiteliales infectadas llegan a un valor máximo que es prácticamente el mismo y desaparecen en un periodo de 6 días.

Por otro lado, como se muestra en la figura 13, para una tasa de infección de $\beta_E = \frac{1}{4}\beta_E[c]$ la disminución de las células epiteliales no infectadas es del mismo orden de magnitud que el valor inicial de éstas. Más aún como se puede apreciar en la escala lineal (figura 13B) se reducen únicamente en un 30%, lo cual corresponde con el hecho de que en el pico de la enfermedad aproximadamente del 30 al 50% del epitelio de las vías respiratorias superiores es destruido [1]. Por su parte cuando $\beta_E = \frac{1}{6}\beta_E[c]$ las células epiteliales no infectadas se mantienen prácticamente constantes. Además, en ambos casos hay una disminución apreciable de las células epiteliales infectadas.

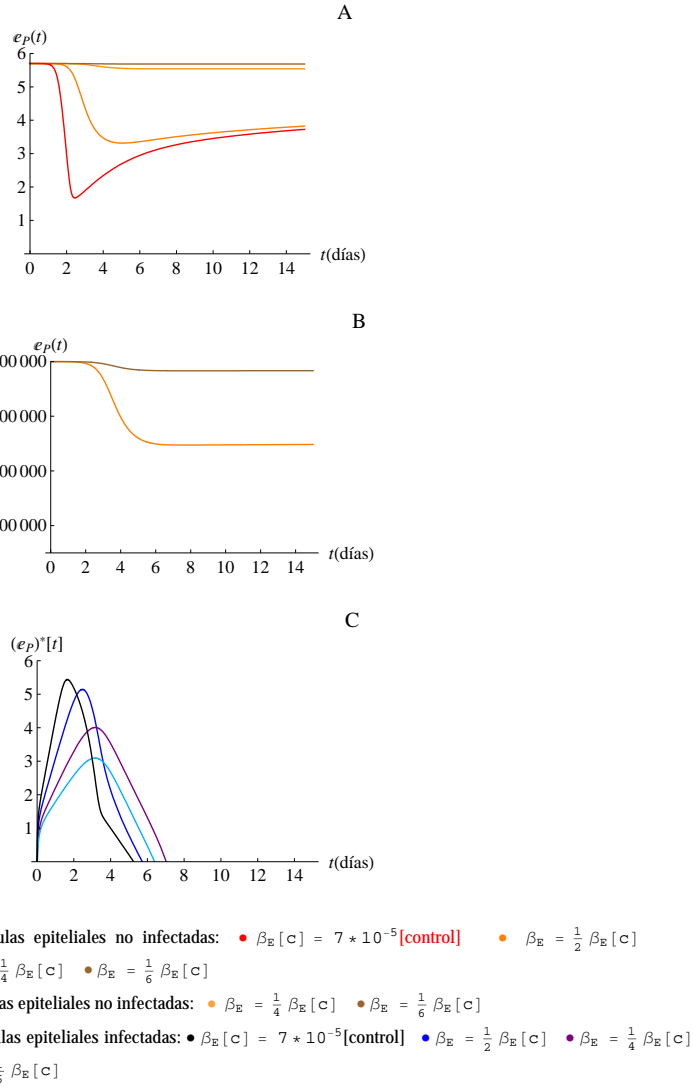


Figura 13. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las células epiteliales no infectadas e infectadas al considerar una tasa de infección de células epiteliales menor

Es notable que en el modelo la población de células epiteliales no infectadas no se recupera aún para tasas de infección relativamente bajas, lo cual daría lugar a que el paciente que se ha recuperado de la enfermedad no alcance los niveles homeostáticos celulares anteriores a la infección como suele ocurrir en los sistemas vivos. Por tanto, es conveniente extender el sistema introduciendo un factor de recuperación celular. Las ecuaciones del modelo se modifican de la siguiente forma:

$$\frac{d}{dt}E_P = \delta_E(E_0 - E_P) - \beta_E E_P V + p E_P \left(1 - \frac{E_P}{E_0}\right), \quad (19)$$

las demás ecuaciones conservan la forma original.

La forma logística del término de recuperación está asociada a la limitación de nutrientes y factores de crecimiento y transcripción genética necesarios para un tipo celular determinado. También está relacionado con el control de poblaciones dando lugar a poblaciones finitas.

Para determinar el orden de magnitud que debe tener el factor de recuperación p , se determina primero la solución estacionaria de la ecuación anterior

$$\frac{d}{dt}E_P = 0.$$

La ecuación cuadrática resultante tiene como solución

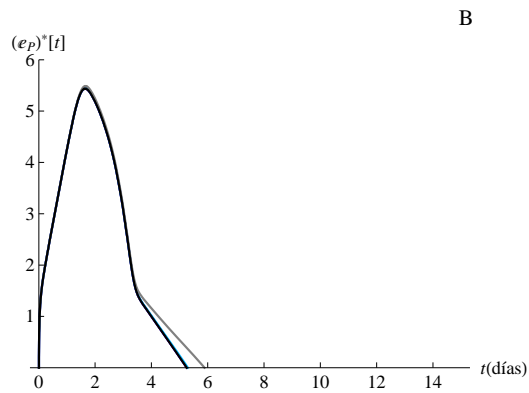
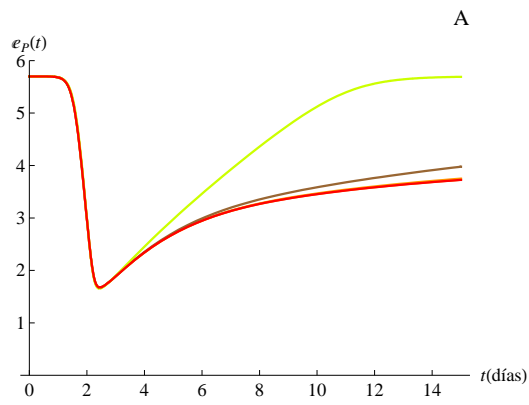
$$E_P = \frac{p - \delta_E - \beta_E V \pm \sqrt{(\delta_E + \beta_E V - p)^2 + 4p\delta_E}}{2\frac{p}{E_0}}. \quad (20)$$

Tomando como valores iniciales $E_P = E_0$ y $V = 0$, se obtiene que la tasa de recuperación p tiene la misma magnitud que la tasa de muerte δ_E . Por lo tanto, debido a que $\delta_E = 10^{-3}$, p debe ser entonces $p = 10^3\delta_E$ para compensar dicho factor, es decir, para que la población de células epiteliales no infectadas se recupere. De forma comparativa en la figura 14 se muestra la dinámica de E_P para diferentes tasas de recuperación, eligiendo primeramente una tasa de recuperación del mismo orden que δ_E , e incrementándola sucesivamente en un orden de magnitud.

Cabe notar que la tasa δ_E es una tasa de recambio, es decir, la velocidad de creación y destrucción de células epiteliales y que la tasa de creación $\delta_E E_0$ de estas células suele determinarse por consistencia entre la población en equilibrio y la razón a la cual desaparece.

$$\frac{d}{dt}E_P = \Gamma - \delta_E E_P = 0 \quad (21)$$

$$E_0 = \frac{\Gamma}{\delta_E} \quad (22)$$



A: Células epiteliales no infectadas: ● $p = 0$ [control] ● $p = 10^{-3}$ ● $p = 10^{-2}$ ● $p = 10^{-1}$ ● $p = 1$
 B: Células epiteliales infectadas: ● $p = 0$ [control] ● $p = 10^{-3}$ ● $p = 10^{-2}$ ● $p = 10^{-1}$ ● $p = 1$

Figura 14. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las células epiteliales no infectadas e infectadas al considerar un factor de recuperación

A continuación se realizó el análisis del efecto de la variación de los parámetros sobre el comportamiento de la carga viral. Los parámetros se variaron uno a uno, manteniendo el resto constantes en los valores control. Se presentan gráficas para aquellos parámetros cuyos cambios en el comportamiento general de la carga viral fueron más significativos. En la figura 15 se puede apreciar que al disminuir la tasa de infección de células epiteliales β_E , así como la tasa de producción de virus π_V , la carga viral disminuye notablemente y el tiempo que toma en desaparecer al virus es aproximadamente el mismo. Por otro lado, al variar la tasa de desaparición del virus, c_V , se modifica la forma de crecimiento de la carga viral. En todos los casos el descenso posterior al máximo parece ocurrir a dos tasas. Esto pudiera estar relacionado con las distintas tasas de desaparición de las células infectadas: epiteliales y dendríticas.

En cuanto a los parámetros que afectan primordialmente el tiempo que toma desaparecer el virus, se pueden observar en la figura 16. Claramente al disminuir la tasa de neutralización de virus por anticuerpos k_V y la tasa de procesamiento de antígeno k_D , aumenta el tiempo que dura la infección. Y se observa como nuevamente intervienen tasas relacionadas con las otras células infectadas: las dendríticas.

Nuestro análisis revela que la tasa de infección de las células epiteliales juega un papel importante, tal como se mostró en las figuras 12 y 13, lo cual muestra la importancia de este parámetro en el desarrollo de la enfermedad. Asimismo, como era de esperarse, los otros parámetros que más afectan la carga viral son precisamente la tasa de producción de virus y la tasa de desaparición (clearance) del mismo. El análisis anterior permite entonces reconocer parámetros clave para entender la enfermedad.

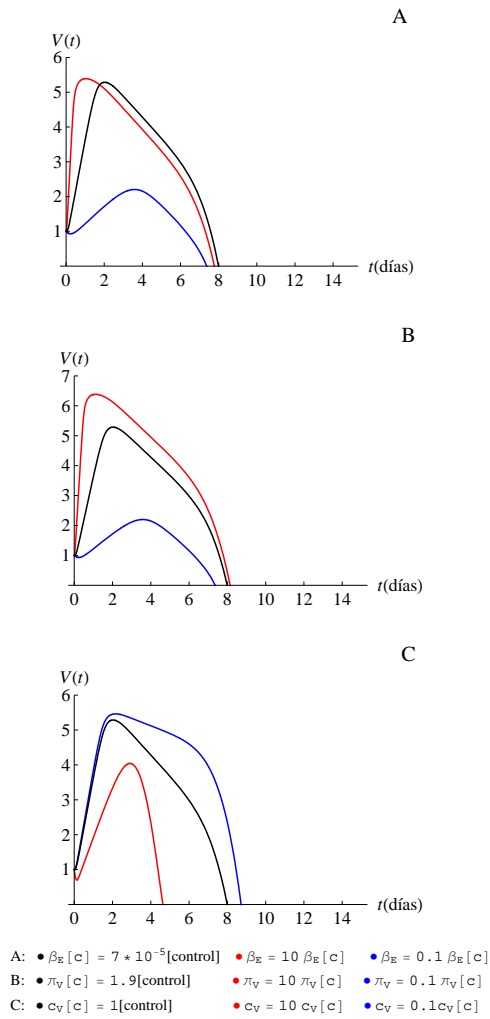
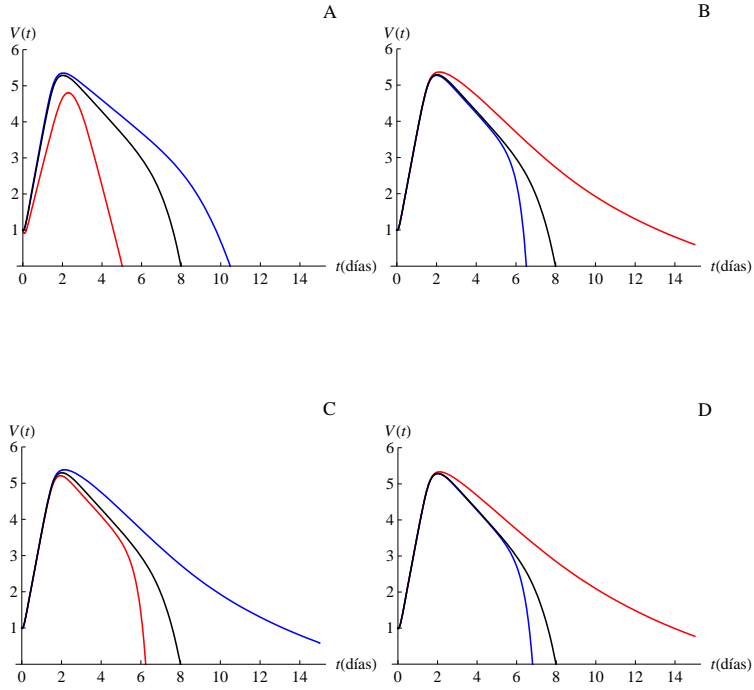


Figura 15. Variación con el tiempo en escala logarítmica de la carga viral ante cambios en los parámetros (β_E = tasa de infección de cel epiteliales; π_V = tasa de producción de virus; c_V = tasa de desaparición de virus (clearance))



- A: • $k_V [c] = 4 \times 10^{-3} [\text{control}]$ • $k_V = 10 k_V [c]$ • $k_V = 0.1 k_V [c]$
 B: • $\delta_{D^*} [c] = 2.9 [\text{control}]$ • $\delta_{D^*} = 10 \delta_{D^*} [c]$ • $\delta_{D^*} = 0.1 \delta_{D^*} [c]$
 C: • $k_D [c] = 200 [\text{control}]$ • $k_D = 10 k_D [c]$ • $k_D = 0.1 k_D [c]$
 D: • $\delta_{DM} [c] = 0.5 [\text{control}]$ • $\delta_{DM} = 10 \delta_{DM} [c]$ • $\delta_{DM} = 0.1 \delta_{DM} [c]$

Figura 16. Variación con el tiempo en escala logarítmica de la carga viral ante cambios en los parámetros (k_V = tasa de neutralización de virus por anticuerpos; δ_{D^*} = tasa de muerte de cel dendríticas infectadas; k_D = tasa de procesamiento de antígeno; δ_{DM} = tasa de muerte de cel dendríticas maduras)

Dinámica de la infección ante terapia antiviral

Se considera también la introducción en el modelo de dos drogas antivirales con eficacias ϵ_1 y ϵ_2 respectivamente, que actúan de manera conjunta (combinación terapéutica). La primera opera bloqueando la infección de células epiteliales. La segunda inhibe la producción de virus por células infectadas. Las ecuaciones del modelo se modifican de la siguiente forma:

$$\frac{d}{dt}E_P = \delta_E(E_0 - E_P) - \beta_E(1 - \epsilon_1)E_PV, \quad (23)$$

$$\frac{d}{dt}E_P^* = \beta_E(1 - \epsilon_1)E_PV - k_E E_P^* \gamma T_E - \delta_E^* E_P^*, \quad (24)$$

$$\frac{d}{dt}V = \pi_V(1 - \epsilon_2)E_P^* - c_V V - k_V V A, \quad (25)$$

las demás ecuaciones conservan la forma original. En la gráfica 17 podemos observar que como era de esperarse al incrementar la eficacia de la terapia las células epiteliales no infectadas disminuyen en una proporción menor. Incluso, basta tener una combinación terapéutica de una eficacia del 75 % (en el caso ideal es 100 % efectiva) para que las células epiteliales no infectadas se mantengan, para fines prácticos, constantes en su valor inicial. Las células epiteliales infectadas y la carga viral, por su parte, disminuyen marcadamente con drogas de esta eficacia. Notamos además que este comportamiento es similar al que induce la disminución de la tasa de infección de células epiteliales β_E según se observa en la figura 13, por lo que a continuación se busca determinar la modificación en el comportamiento de las poblaciones al tener ahora terapia antiviral con una tasa de infección más realista: $\beta_E = \frac{1}{4}\beta_E[c]$. Debido a que las células epiteliales no infectadas son las que presentan el cambio más drástico, en la figura 18 se muestran en escala lineal para poder apreciar los nuevos valores. En el caso de las células epiteliales infectadas y la carga viral se utiliza la escala logarítmica utilizada anteriormente. Se obtiene que aún con una combinación de terapia 25 % efectiva, las células epiteliales no infectadas presentan una disminución más cercana a la realidad. En este caso es con una combinación de terapia 50 % efectiva que las células epiteliales no infectadas se mantienen para efectos prácticos constantes y las células infectadas y la carga viral disminuyen notablemente.

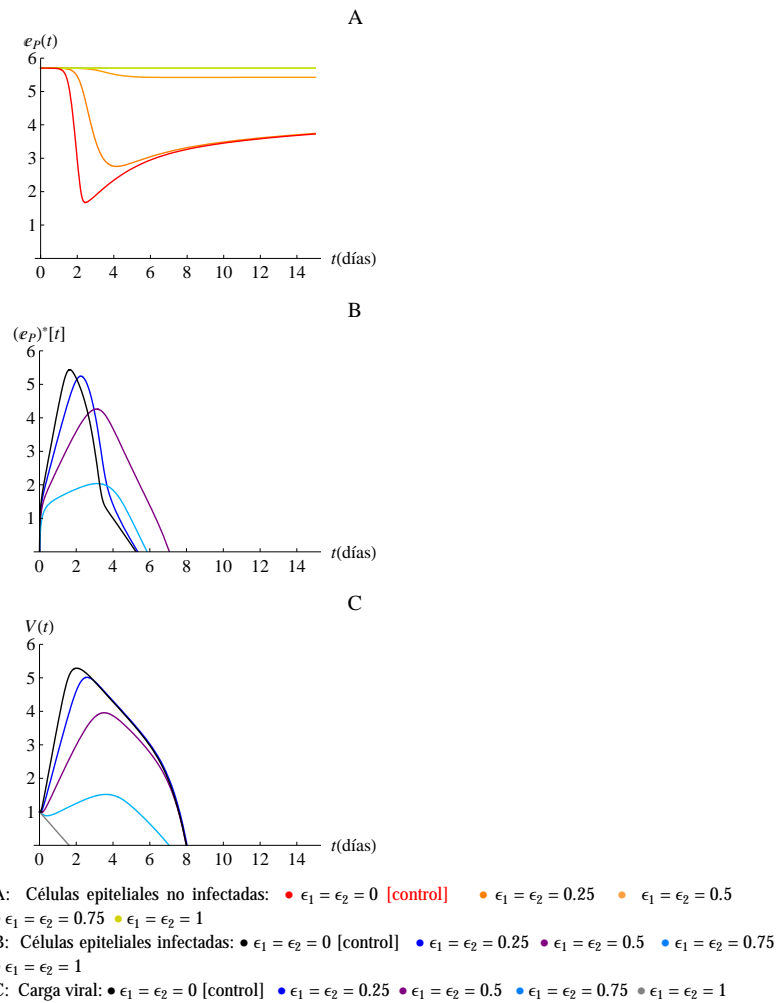


Figura 17. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las células epiteliales no infectadas, infectadas y la carga viral al considerar combinación terapéutica con diferente eficacia

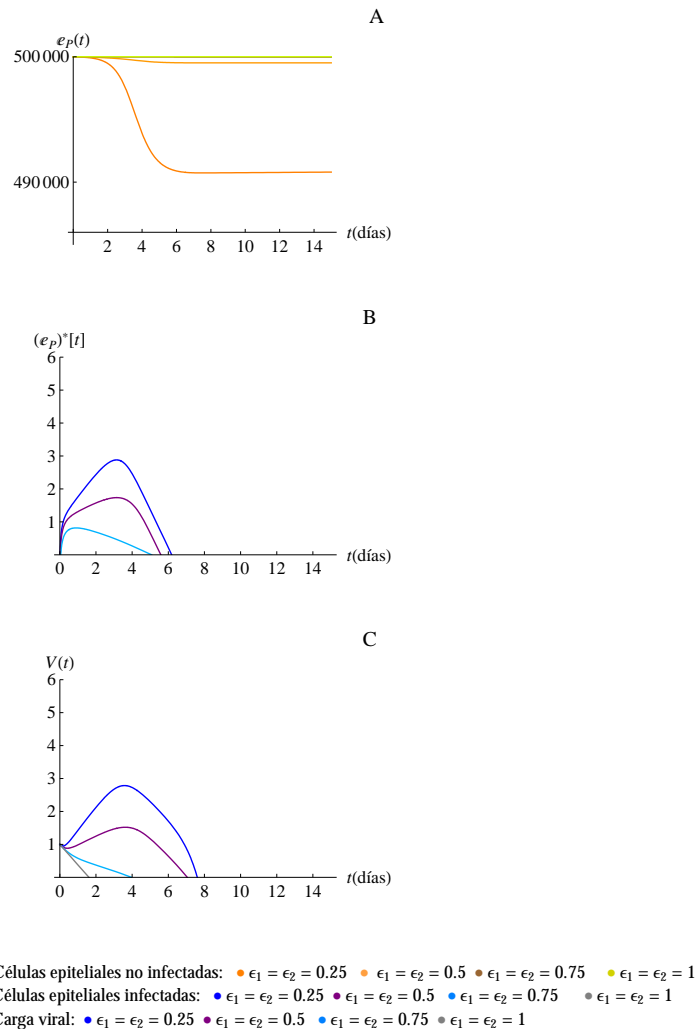
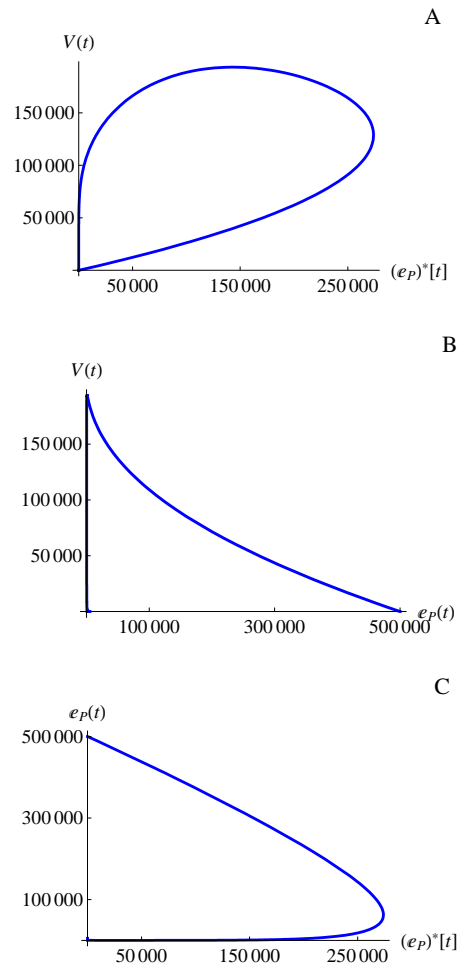


Figura 18. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las células epiteliales no infectadas, infectadas y la carga viral al considerar combinación terapéutica con diferente eficacia para una tasa de infección de células epiteliales $\beta_E = \frac{1}{4}\beta_E[c]$

Dinámica de la infección en el espacio fase

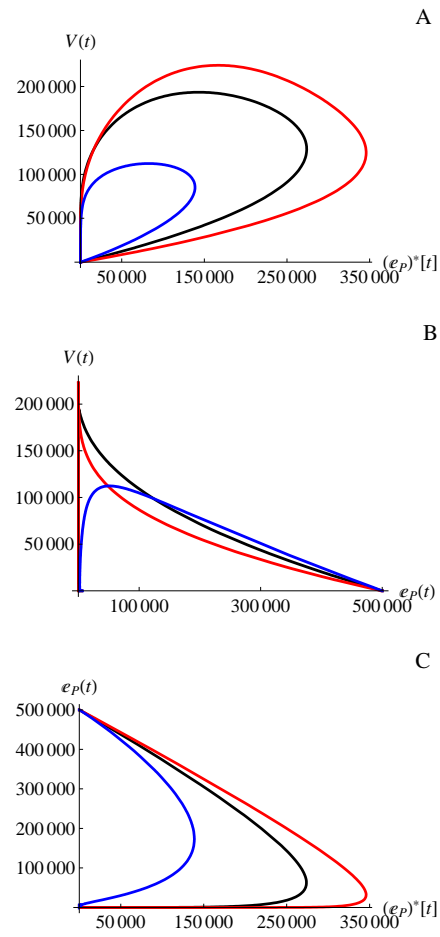
Para tener un panorama más amplio de la dinámica de la infección se realizó un análisis de la dependencia mutua de las variables del modelo en el espacio fase. En particular consideremos los planos fase V vs E_P^* , V vs E_P y E_P vs E_P^* . En la figura 19 observamos un ciclo en V vs E_P^* en forma similar al que se presenta en modelos de dinámica de poblaciones predador-presa. En cambio, en los planos V vs E_P y E_P vs E_P^* observamos como cada población alcanza los valores máximos que se determinaron previamente y se definen trayectorias no periódicas en el espacio fase, es decir, no se cierran. Esto está relacionado con el hecho de que en el plano V vs E_P^* ambas variables tienen el mismo tipo de crecimiento, mientras que en los planos V vs E_P y E_P vs E_P^* una variable crece y la otra disminuye.

Debido a que el estudio del espacio fase permite estudiar la dinámica de una forma cualitativa, se hizo a continuación la prueba de cómo se modifican las curvas al cambiar los parámetros que se encontró previamente causaban cambios notables en la carga viral, es decir, β_E , π_V y c_V . En las figuras 20, 21 y 22 se puede observar que la variación de los parámetros se refiere básicamente a un cambio en el tamaño de la curva, es decir, un cambio en la escala mas el comportamiento se mantiene (el ciclo sigue siendo un ciclo y las curvas abiertas siguen siendo abiertas). Solamente para el caso del plano V vs E_P se pueden apreciar pequeños cambios en la forma de la trayectoria. Consideremos la variación de la tasa de infección de células epiteliales β_E (figura 20). Se observa que al aumentar esta tasa existe una disminución en la carga viral. Esto puede ser debido a la eficiencia en el proceso de infección, mostrando que el parámetro control refleja un proceso de infección más eficiente que aquel que tiene una tasa mayor. Sin embargo, en todos los casos de este plano la estructura general de la trayectoria es que parte de cero, llega a un máximo y decrece de manera paulatina.



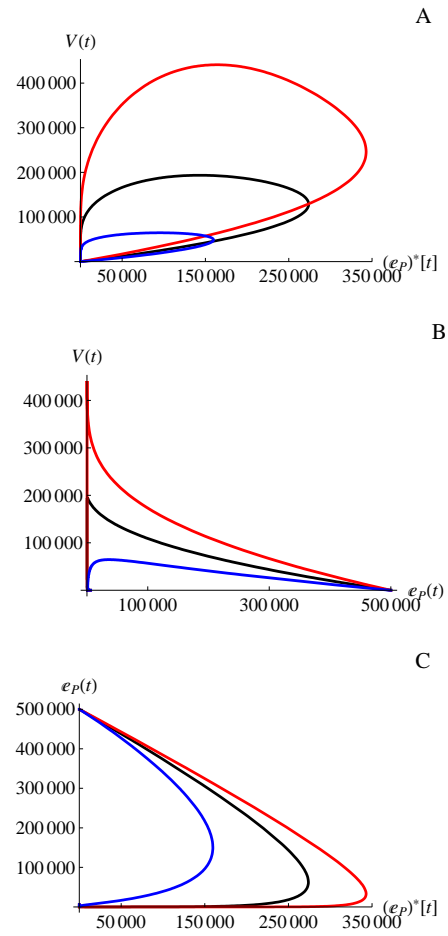
- A: Células epiteliales infectadas y carga viral
- B: Células epiteliales no infectadas y carga viral
- C: Células epiteliales infectadas y no infectadas

Figura 19. Plano fase



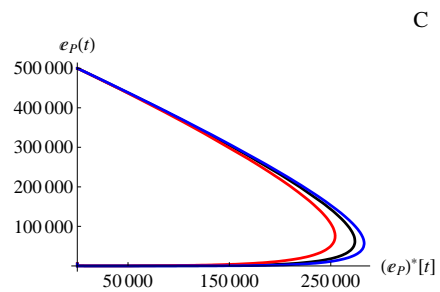
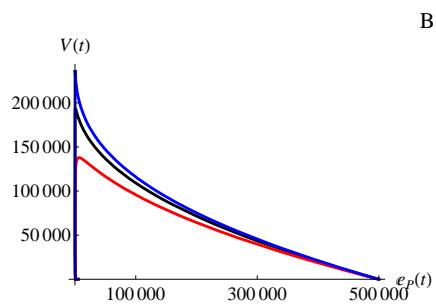
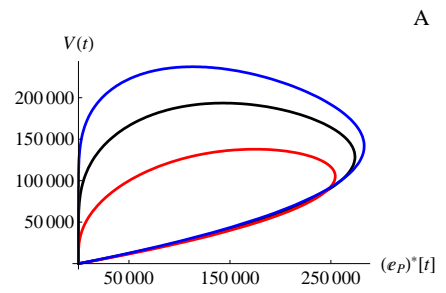
A,B,C: • $\beta_E [c] = 7 \times 10^{-5}[\text{control}]$ • $\beta_E = 2 \beta_E [c]$ • $\beta_E = \frac{1}{2} \beta_E [c]$

Figura 20. Análisis del plano fase ante la variación de parámetros (β_E = tasa de infección de células epiteliales)



A,B,C: • $\pi_V [c] = 1.9[\text{control}]$ • $\pi_V = 2 \pi_V [c]$ • $\pi_V = \frac{1}{2} \pi_V [c]$

Figura 21. Análisis del plano fase ante la variación de parámetros (π_V = tasa de producción de virus)



A,B,C: • $c_V [c] = 1[\text{control}]$ • $c_V = 2 c_V [c]$ • $c_V = \frac{1}{2} c_V [c]$

Figura 22. Análisis del plano fase ante la variación de parámetros (c_V = tasa de desaparición de virus (clearance))

Con el propósito de estudiar la dinámica de la infección a largo plazo se extendió el análisis en el espacio fase hasta un tiempo de un año después del inicio de la infección. Los resultados se muestran en la figura 23. Se puede apreciar la aparición de rizados alrededor del origen de coordenadas. Estos pueden interpretarse como recurrencias en la infección asociadas (aparentemente) a virus remanente que no ha sido eliminado por la acción del sistema inmune. Esto se discutirá en la siguiente sección.

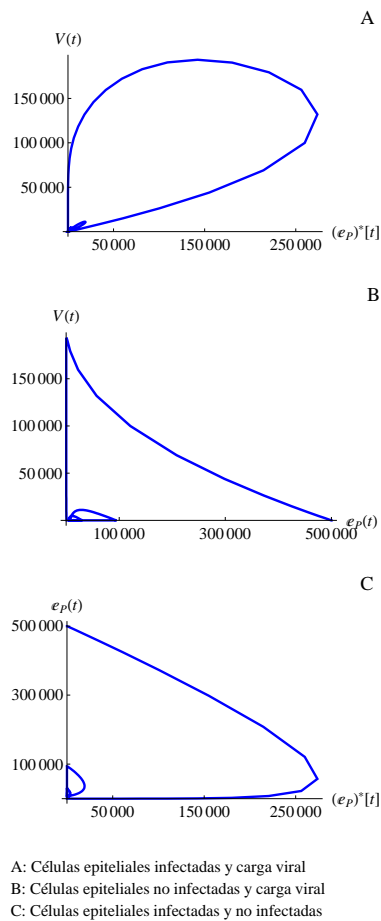


Figura 23. Plano fase para tiempos largos

Dinámica a largo plazo de las poblaciones celulares y virales

Los rizados observados en las trayectorias del espacio fase llevaron a considerar entonces la realización del análisis del comportamiento de las variables del modelo a lo largo del tiempo para tratar de determinar recurrencias en la infección. La figura 24 muestra las variables en las cuales se ha enfocado el estudio.

Se puede ver que aún cuando parecía que la infección había desaparecido del todo, ésta regresa alrededor del día 200, es decir, unos 7 meses después de la primera infección. Más aún, el resurgimiento de la infección no desaparece sino que alcanza un valor estacionario. En la figura se muestra la evolución a través de 2 años en el tiempo.

Esta imposibilidad de eliminar el virus, aún cuando puede ser un artificio del modelo, puede tratarse de un resurgimiento de la viremia asociado en este modelo a virus remanente. Existen evidencias clínicas de este comportamiento en infecciones asociadas a retrovirus, como es el caso del VIH [11], [12] y [13], en el cual se ha observado que cuando se administra terapia antiretroviral altamente activa a pacientes infectados de VIH por periodos largos de tiempo, la mayoría de los pacientes alcanza cargas virales que son indetectables por las pruebas estándar (cantidad de ARN de VIH < 50 copias/ml). Los pacientes pueden continuar presentando cargas virales por debajo de los límites de estas pruebas por años. Sin embargo, en algunas ocasiones la carga viral puede encontrarse por arriba del límite de detección. Puede ser que estos “blips” en la carga viral sean indicadores de episodios intermitentes de un aumento en la replicación viral.

El resurgimiento observado pudiera llevar a la formación de un reservorio viral de bajo nivel (la cantidad de virus es 2 órdenes de magnitud menor que en la infección aguda) que probablemente no daría lugar a manifestaciones clínicas, pero que eventualmente podría presentarse, en algunos casos, una manifestación de la infección si hubiera cambios en la respuesta inmune, por ejemplo. Este comportamiento proviene en parte de la suposición implícita en el modelo de que el virus de influenza A no se degrada en los procesos de replicación. Esto ocurre en el caso de retrovirus que integran su material genético al ADN celular. En el caso del virus de influenza A el proceso de replicación ocurre en el citoplasma celular, por lo cual es factible que eventualmente ocurra la degradación viral. Sin embargo, es posible que el virus sea capaz de mantener su identidad a través de la infección por largo tiempo. Por lo tanto, resulta de interés en nuestro trabajo llevar a cabo un análisis de la dinámica de este resurgimiento de la infección.

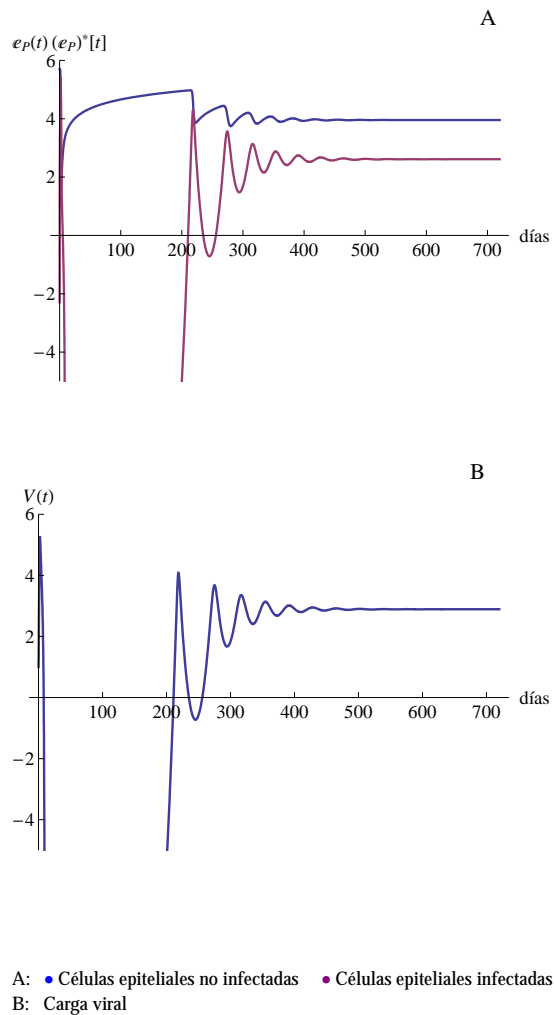
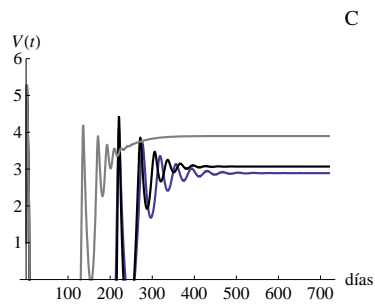
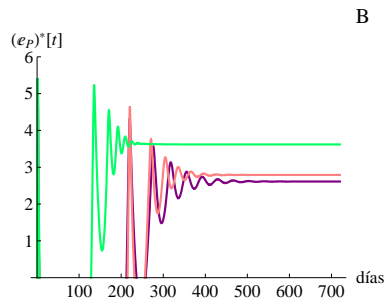
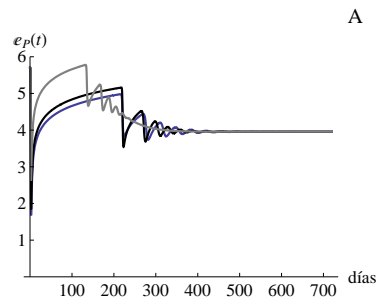


Figura 24. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones control para tiempos largos

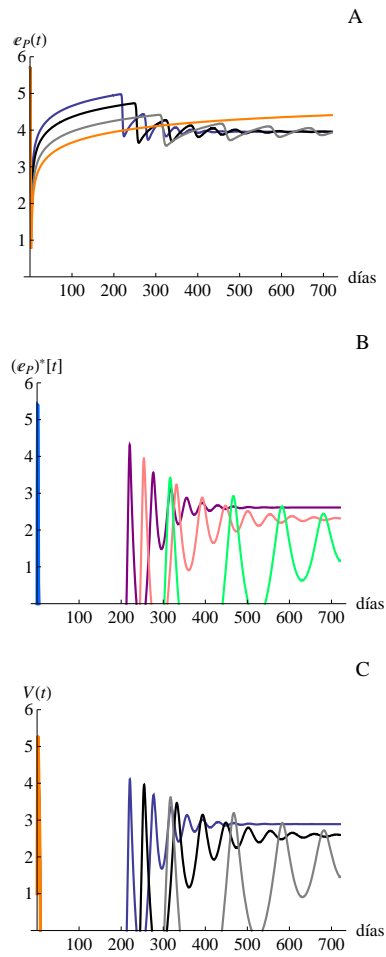
Dinámica a largo plazo considerando diferentes condiciones iniciales

Para comenzar con el análisis del resurgimiento de la infección, se consideran diferentes condiciones iniciales de células epiteliales sanas. La figura 25 muestra que al aumentar el número de células epiteliales disponibles sigue apareciendo el resurgimiento de la infección, incluso aparece en menor tiempo. Por otro lado, se observa que únicamente al disminuir el número de células epiteliales un orden de magnitud respecto al control, se limita a tal grado el número de células disponibles que desaparece por completo el resurgimiento de la infección (figura 26). Las soluciones obtenidas prácticamente no dependen de las condiciones iniciales del resto de las poblaciones, por lo que no se consideran variaciones en éstas. Se toma únicamente una población inicial arbitraria pequeña que permite el desarrollo de la dinámica a través de los algoritmos de solución.



A: Células epiteliales no infectadas: $\bullet E_0 [c] = 5 \times 10^5 [\text{control}]$ $\bullet E_0 = 1.5 E_0 [c]$ $\bullet E_0 = 10 E_0 [c]$
 B: Células epiteliales infectadas: $\bullet E_0 [c] = 5 \times 10^5 [\text{control}]$ $\bullet E_0 = 1.5 E_0 [c]$ $\bullet E_0 = 10 E_0 [c]$
 C: Carga viral: $\bullet E_0 [c] = 5 \times 10^5 [\text{control}]$ $\bullet E_0 = 1.5 E_0 [c]$ $\bullet E_0 = 10 E_0 [c]$

Figura 25. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones control para tiempos largos considerando diferentes condiciones iniciales de células epiteliales sanas



A: Células epiteliales no infectadas: $\bullet E_0 [c] = 5 \times 10^5 [\text{control}]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{2} E_0 [c]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{5} E_0 [c]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{10} E_0 [c]$
 B: Células epiteliales infectadas: $\bullet E_0 [c] = 5 \times 10^5 [\text{control}]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{2} E_0 [c]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{5} E_0 [c]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{10} E_0 [c]$
 C: Carga viral: $\bullet E_0 [c] = 5 \times 10^5 [\text{control}]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{2} E_0 [c]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{5} E_0 [c]$ $\bullet E_0 = \frac{1}{10} E_0 [c]$

Figura 26. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones control para tiempos largos considerando diferentes condiciones iniciales de células epiteliales sanas

Dinámica a largo plazo considerando un modelo simplificado

Asimismo resulta de interés llevar a cabo un análisis de la dinámica del resurgimiento de la infección en términos de un modelo simplificado que considera únicamente a E_P , E_P^* y V . El modelo simplificado a considerar es el siguiente:

$$\frac{d}{dt}E_P = \delta_E(E_0 - E_P) - \beta_E E_P V, \quad (26)$$

$$\frac{d}{dt}E_P^* = \beta_E E_P V - \delta_{E^*} E_P^*, \quad (27)$$

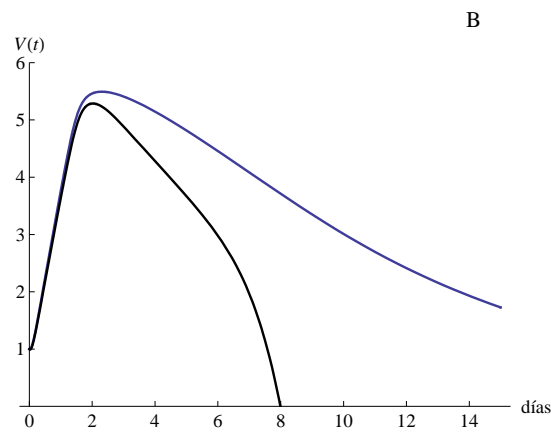
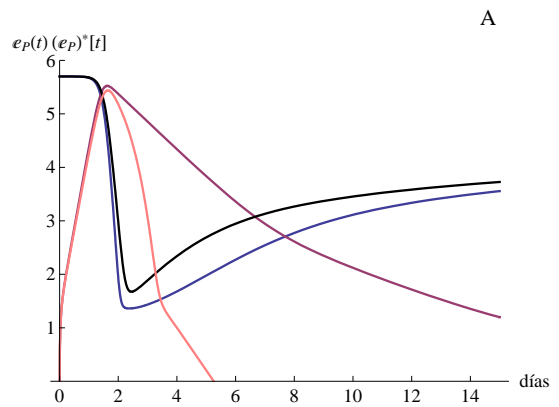
$$\frac{d}{dt}V = \pi_V E_P^* - c_V V. \quad (28)$$

Este modelo equivale a no considerar la respuesta inmunológica, simplemente la infección de las células epiteliales por medio de los virus. Estas ecuaciones son similares a las que se utilizan en el estudio de la dinámica de la infección de linfocitos T CD4 por el VIH [10]. Aquí también se observa que después de la infección, la viremia alcanza un pico muy prominente y posteriormente declina debido a que la fuente de linfocitos está siendo disminuída por la presencia masiva del virus. Este comportamiento se observa clínicamente. Ambos modelos son del tipo predador-presa, donde la infección causada por el virus (influenza A o VIH) está limitada por la disponibilidad de células blanco susceptibles (células epiteliales o linfocitos), más que por los efectos de la respuesta inmune.

Las variables del modelo simplificado se muestran comparativamente con las variables correspondientes del modelo completo (control) a lo largo del tiempo en la figura 27. Se puede observar que el comportamiento de las poblaciones celulares es similar y la diferencia principal radica en el tiempo que toma eliminar la infección.

Además, al observar la evolución en el tiempo del modelo simplificado se determina que existe también el resurgimiento de la infección (figura 28). Lo cual muestra que este resurgimiento es independiente de la respuesta inmune, éste aparece en menor tiempo, mas alcanza los mismos valores estacionarios. Es así como el sistema inmunológico permite reducir el tiempo que toma eliminar la infección y a su vez evitar el resurgimiento de la infección por más tiempo.

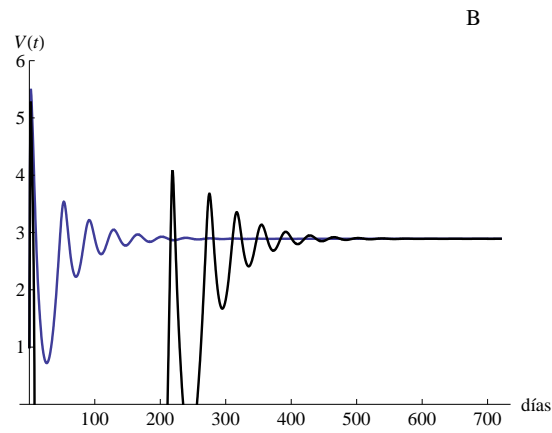
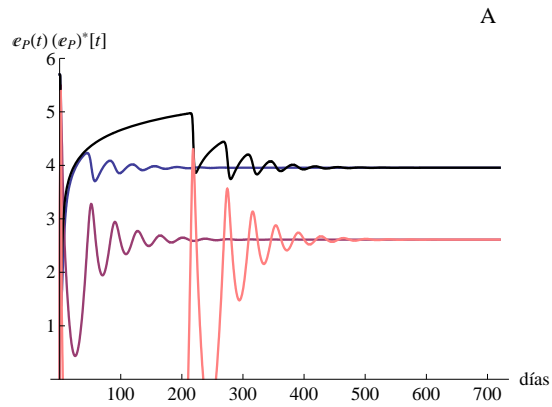
Cabe destacar que al tomar en cuenta un modelo simplificado similar, ahora para el caso de la infección del virus del VIH, se observa de igual manera un resurgimiento de la infección de bajo nivel y la escala temporal de éste se encuentra directamente relacionada con el parámetro de infección [14]. En las figuras 29 y 30 se muestra dicho comportamiento para los linfocitos sanos e infectados y la carga viral.



A: ● Células epiteliales no infectadas ● Células epiteliales infectadas
 Control: ● Células epiteliales no infectadas ● Células epiteliales infectadas

B: ● Carga viral
 Control: ● Carga viral

Figura 27. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones control y el modelo simplificado



A: ● Células epiteliales no infectadas ● Células epiteliales infectadas
 Control: ● Células epiteliales no infectadas ● Células epiteliales infectadas

B: ● Carga viral
 Control: ● Carga viral

Figura 28. Variación con el tiempo en escala logarítmica de las poblaciones control y el modelo simplificado para tiempos largos

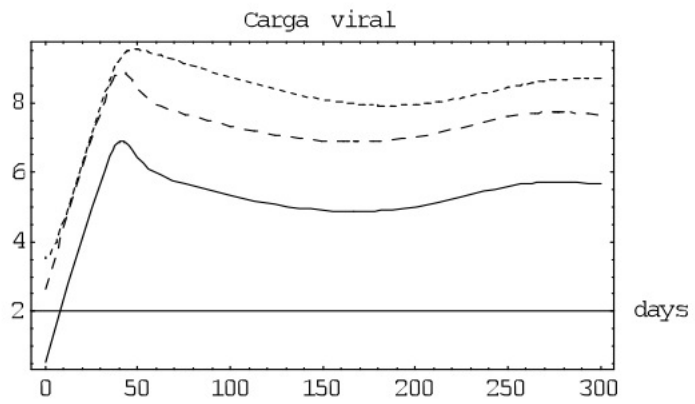
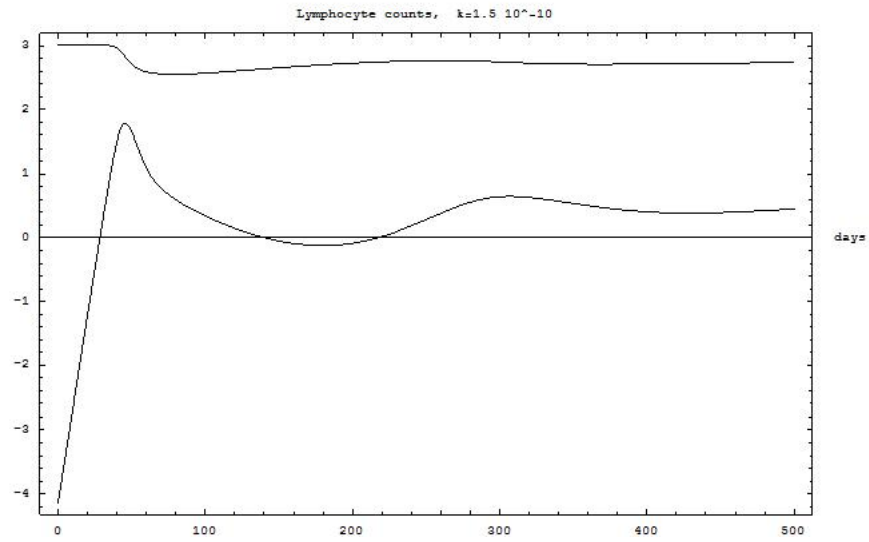


Figura 29. Variación con el tiempo de los linfocitos sanos e infectados y la carga viral en una infección de VIH

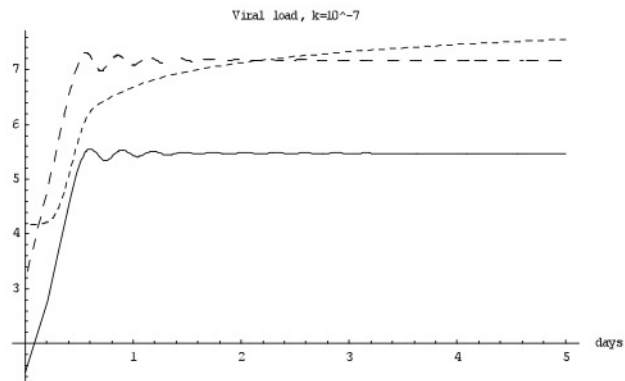
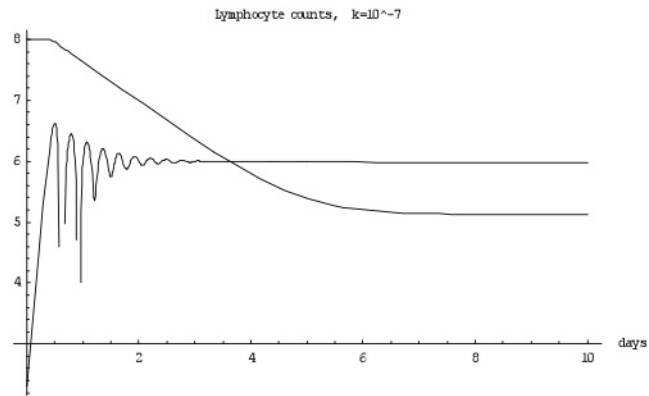
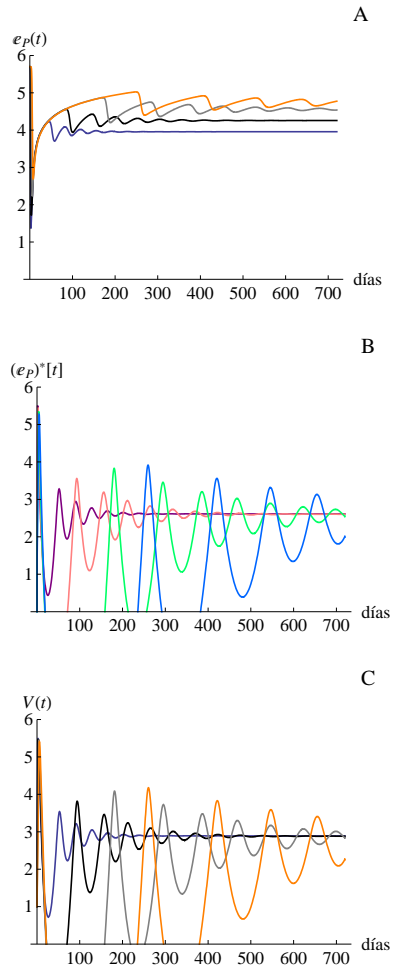


Figura 30. Variación con el tiempo de los linfocitos sanos e infectados y la carga viral en una infección de VIH

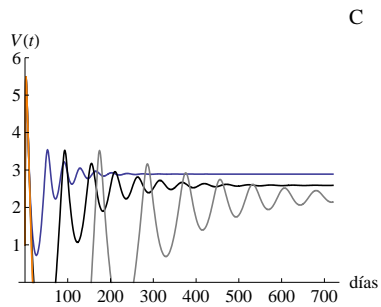
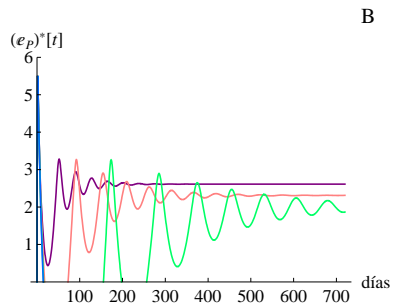
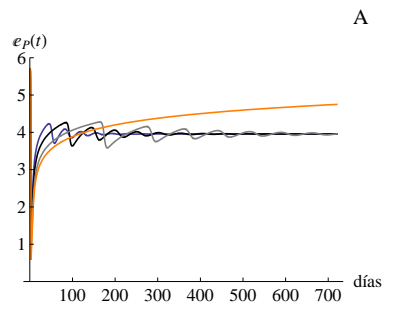
A continuación se busca determinar si la modificación de alguno de los parámetros del modelo simplificado (ecuaciones 26, 27 y 28) permite que desaparezca el resurgimiento de la infección. Debido a que dichos parámetros se refieren a la infección y muerte de las células epiteliales causada por los virus, la prueba consistió en reducir tales valores. Únicamente en el caso de la tasa de desaparición (clearance) del virus se hicieron pruebas con valores mayores y menores al control.

A partir de las figuras 31 a 36 se puede observar que excepto cuando se disminuye la tasa de muerte de las células epiteliales no infectadas, infectadas y la tasa de desaparición de virus, el resurgimiento de la infección sigue apareciendo. En el caso de la tasa de infección de células epiteliales β_E , aún cuando el resurgimiento tarda más tiempo en aparecer y el número de células epiteliales sanas disminuye en una proporción menor, las infectadas presentan un pico mayor. La carga viral por su parte aumenta también. Al disminuir la tasa de muerte de las células epiteliales no infectadas δ_E éstas mantienen el mismo valor estacionario. En cambio, las infectadas y la carga viral disminuyen en número. Solamente para el caso más pequeño de δ_E se obtiene una recuperación de las células epiteliales no infectadas y una ausencia de picos de resurgimiento para las células epiteliales infectadas y la carga viral. Como se mencionó anteriormente, la tasa δ_E es una tasa de recambio, es decir, la velocidad de creación y destrucción de células epiteliales. Por tanto, al disminuirla estamos limitando la cantidad de células disponibles, lo cual lleva a la imposibilidad de un resurgimiento de la infección. En la figura 33 se puede observar también que al disminuir la tasa de muerte de las células epiteliales infectadas δ_{E^*} el resurgimiento va desapareciendo. Sin embargo, las células sanas disminuyen en número, mientras que las infectadas y los virus aumentan. Como era de esperarse, al disminuir la tasa de producción de virus π_V la carga viral disminuye. Entretanto las células epiteliales sanas e infectadas muestran un comportamiento muy similar a aquel observado al disminuir la tasa de infección de las células epiteliales β_E . El otro caso en el que desaparece el resurgimiento de la infección es al disminuir la tasa de desaparición del virus c_V (figura 35). No es sorpresa que al desaparecer menos el virus, su población aumente. En esta ocasión las células epiteliales sanas disminuyen en número y las infectadas se mantienen en el mismo valor estacionario. Para terminar este análisis se aumentó la tasa de desaparición del virus c_V y efectivamente la carga viral disminuye. Nuevamente el comportamiento de las células epiteliales es similar a aquel observado al disminuir la tasa de infección β_E .



A: Células epiteliales no infectadas: $\bullet \beta_E @ cD = 7 \times 10^{-5}$ [control] $\bullet \beta_E = \frac{1}{2} \beta_E @ cD$ $\bullet \beta_E = \frac{1}{4} \beta_E @ cD$ $\bullet \beta_E = \frac{1}{6} \beta_E @ cD$
 B: Células epiteliales infectadas: $\bullet \beta_E @ cD = 7 \times 10^{-5}$ [control] $\bullet \beta_E = \frac{1}{2} \beta_E @ cD$ $\bullet \beta_E = \frac{1}{4} \beta_E @ cD$ $\bullet \beta_E = \frac{1}{6} \beta_E @ cD$
 C: Carga viral: $\bullet \beta_E @ cD = 7 \times 10^{-5}$ [control] $\bullet \beta_E = \frac{1}{2} \beta_E @ cD$ $\bullet \beta_E = \frac{1}{4} \beta_E @ cD$ $\bullet \beta_E = \frac{1}{6} \beta_E @ cD$

Figura 31. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado modificando la tasa de infección de células epiteliales



A: Células epiteliales no infectadas: ● $\delta_E [c] = 7 \times 10^{-5}$ [control] ● $\delta_E = \frac{1}{2} \delta_E [c]$ ● $\delta_E = \frac{1}{4} \delta_E [c]$ ● $\delta_E = \frac{1}{6} \delta_E [c]$
 B: Células epiteliales infectadas: ● $\delta_E [c] = 7 \times 10^{-5}$ [control] ● $\delta_E = \frac{1}{2} \delta_E [c]$ ● $\delta_E = \frac{1}{4} \delta_E [c]$ ● $\delta_E = \frac{1}{6} \delta_E [c]$
 C: Carga viral: ● $\delta_E [c] = 7 \times 10^{-5}$ [control] ● $\delta_E = \frac{1}{2} \delta_E [c]$ ● $\delta_E = \frac{1}{4} \delta_E [c]$ ● $\delta_E = \frac{1}{6} \delta_E [c]$

Figura 32. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado modificando la tasa de muerte de células epiteliales no infectadas

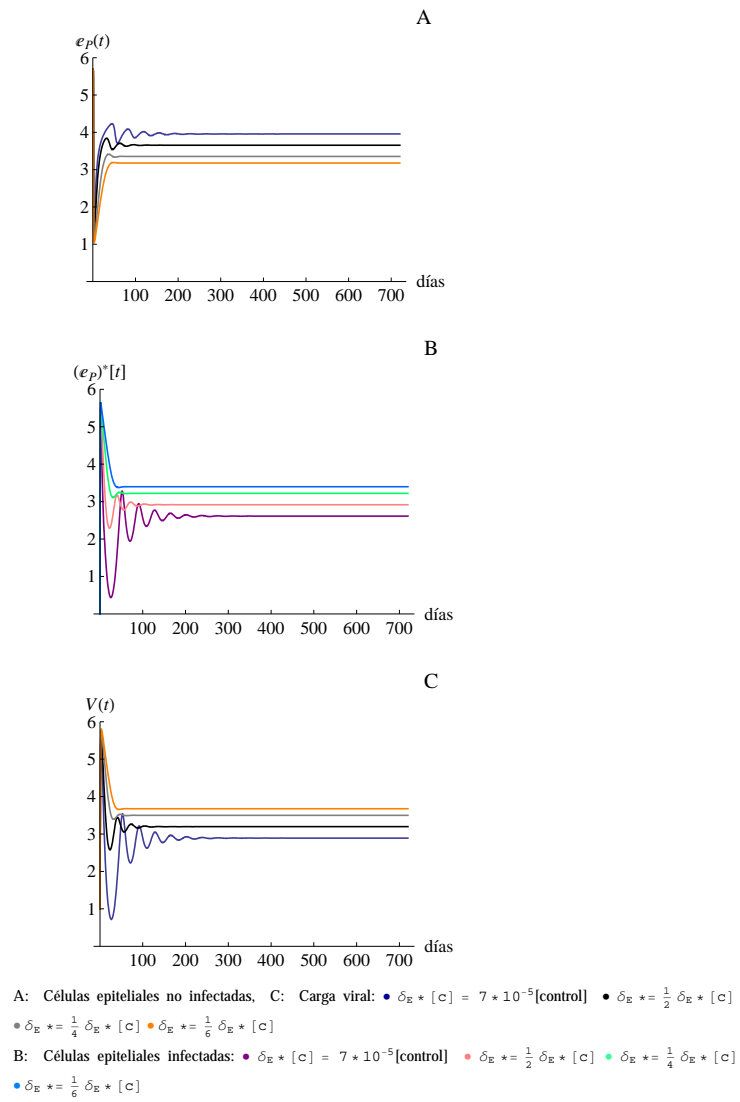
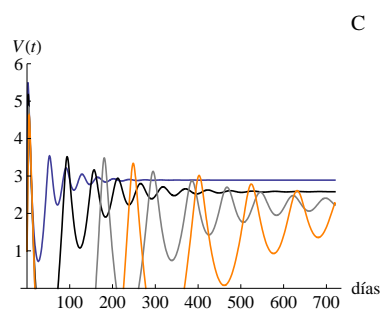
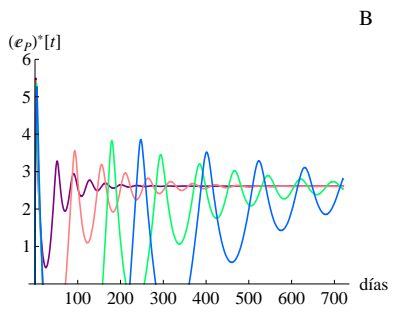
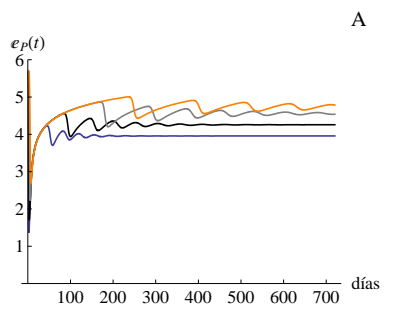


Figura 33. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado modificando la tasa de muerte de células epiteliales infectadas



A: Células epiteliales no infectadas: ● $\pi_V [c] = 7 * 10^{-5}$ [control] ● $\pi_V = \frac{1}{2} \pi_V [c]$ ● $\pi_V = \frac{1}{4} \pi_V [c]$ ● $\pi_V = \frac{1}{6} \pi_V [c]$
 B: Células epiteliales infectadas: ● $\pi_V [c] = 7 * 10^{-5}$ [control] ● $\pi_V = \frac{1}{2} \pi_V [c]$ ● $\pi_V = \frac{1}{4} \pi_V [c]$ ● $\pi_V = \frac{1}{6} \pi_V [c]$
 C: Carga viral: ● $\pi_V [c] = 7 * 10^{-5}$ [control] ● $\pi_V = \frac{1}{2} \pi_V [c]$ ● $\pi_V = \frac{1}{4} \pi_V [c]$ ● $\pi_V = \frac{1}{6} \pi_V [c]$

Figura 34. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado modificando la tasa de producción de virus

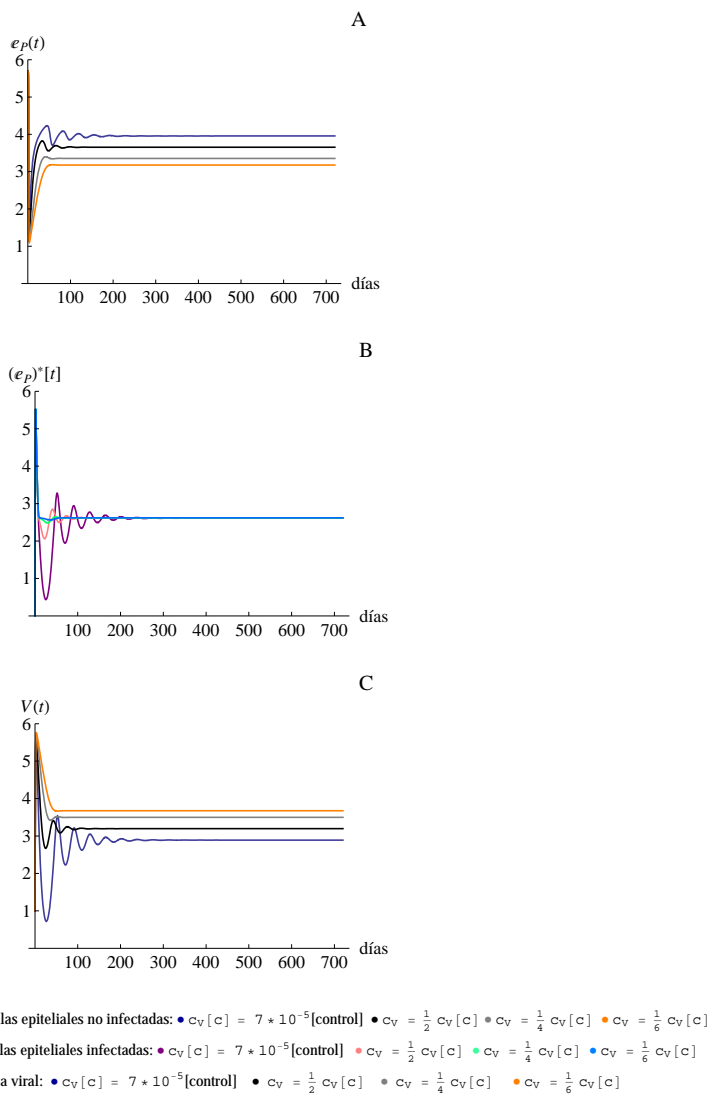
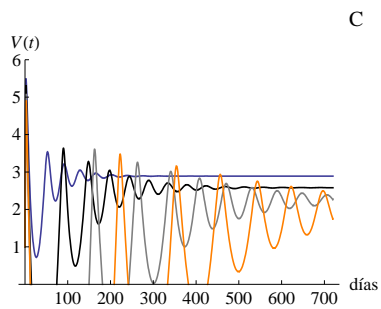
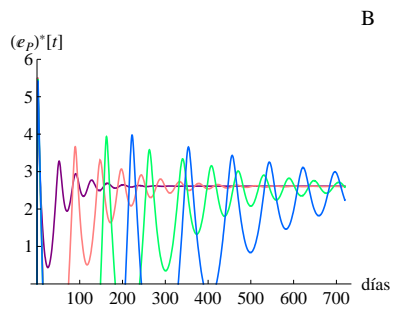
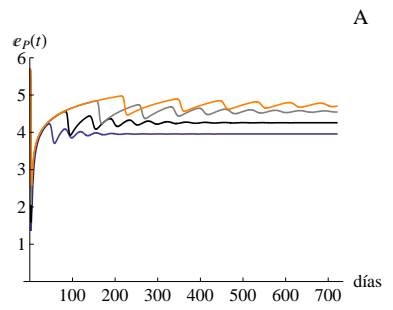


Figura 35. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado modificando la tasa de desaparición de virus



A: Células epiteliales no infectadas: ● $c_V [c] = 7 \cdot 10^{-5}$ [control] ● $c_V = 2 c_V [c]$ ● $c_V = 4 c_V [c]$ ● $c_V = 6 c_V [c]$
 B: Células epiteliales infectadas: ● $c_V [c] = 7 \cdot 10^{-5}$ [control] ● $c_V = 2 c_V [c]$ ● $c_V = 4 c_V [c]$ ● $c_V = 6 c_V [c]$
 C: Carga viral: ● $c_V [c] = 7 \cdot 10^{-5}$ [control] ● $c_V = 2 c_V [c]$ ● $c_V = 4 c_V [c]$ ● $c_V = 6 c_V [c]$

Figura 36. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado modificando la tasa de desaparición de virus

Asimismo debido a que en presencia de tratamiento el virus de influenza A no genera latencia clínicamente se busca ahora observar el comportamiento ante la terapia antiviral. Recordamos que las ecuaciones que se modifican al introducir la terapia son justamente las correspondientes a las células epiteliales sanas, infectadas y la carga viral, las cuales forman el modelo simplificado considerado.

$$\frac{d}{dt}E_P = \delta_E(E_0 - E_P) - \beta_E(1 - \epsilon_1)E_PV, \quad (29)$$

$$\frac{d}{dt}E_P^* = \beta_E(1 - \epsilon_1)E_PV - \delta_{E^*}E_P^*, \quad (30)$$

$$\frac{d}{dt}V = \pi_V(1 - \epsilon_2)E_P^* - c_VV. \quad (31)$$

Tal como era de esperarse al aumentar la eficacia de la combinación de terapia el resurgimiento de la infección va desapareciendo como se muestra en la figura 37.

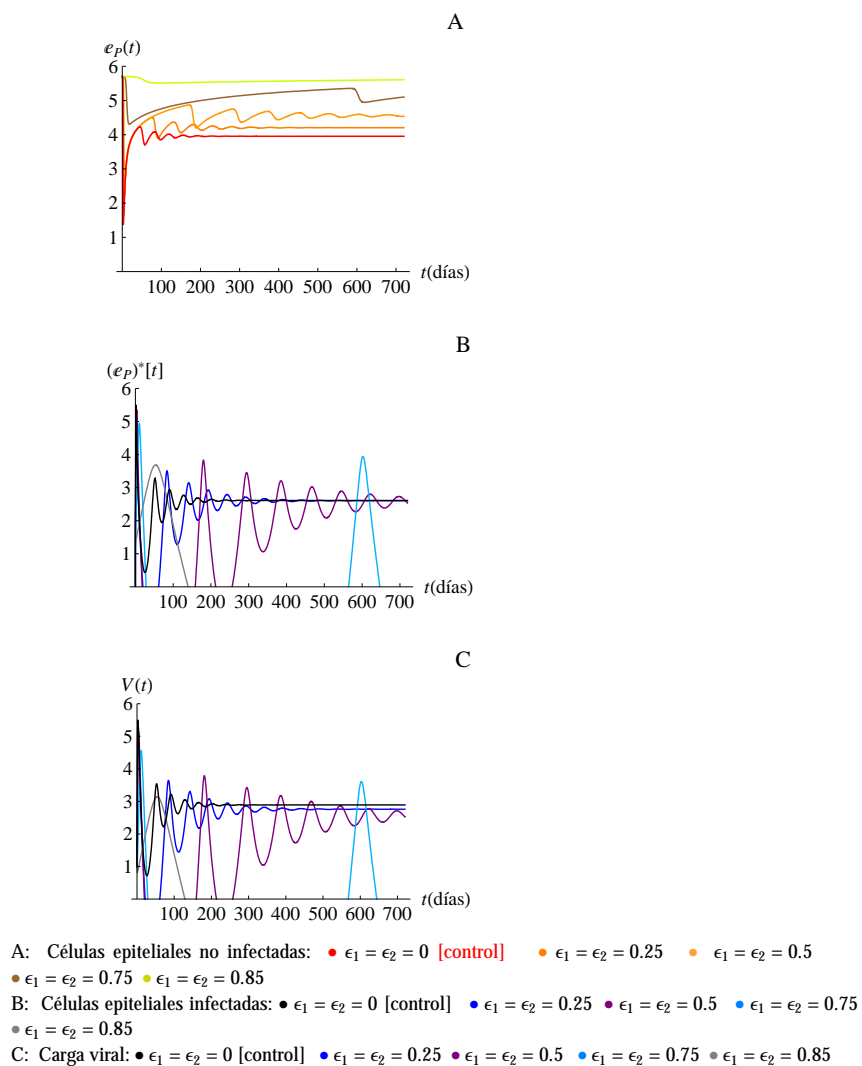


Figura 37. Variación con el tiempo en escala logarítmica del modelo simplificado al considerar combinación terapéutica con diferente eficacia

Dinámica a largo plazo considerando diferentes tasas de infección de células epiteliales

Finalmente, debido a que la tasa de infección de células epiteliales β_E ha mostrado ser en nuestro estudio el parámetro de mayor interés durante el proceso de la infección, se muestra en la figura 38 a modo de resumen la dependencia de las células epiteliales no infectadas ante la variación de dicho parámetro retomando el modelo completo (control) para tiempos largos. Al comparar los valores con aquellos obtenidos en la figura 13, se aprecia que para los valores más pequeños de β_E el número de células epiteliales no infectadas se mantiene con el paso del tiempo. Asimismo, al continuar el incremento de esta tasa se puede observar, comparando con sus valores iniciales, una recuperación moderada de las células epiteliales a medida que pasa el tiempo, tal como era de esperarse. Sin embargo, para valores mayores de β_E (ver figura 12) el número de células epiteliales no muestra recuperación alguna aún a tiempos largos.

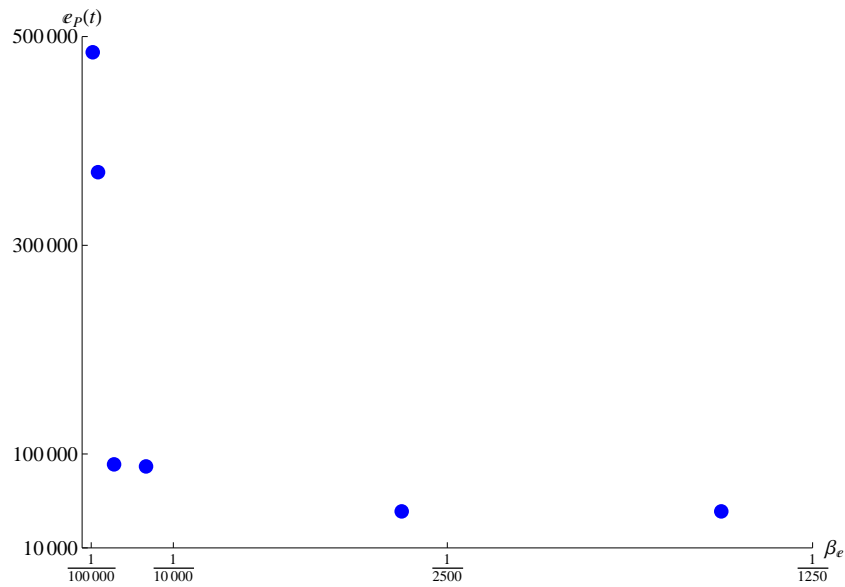


Figura 38. Células epiteliales no infectadas para tiempos largos al considerar diferentes tasas de infección β_E

Discusión y Conclusiones

En este trabajo se realizó un estudio con enfoque celular de la infección del virus de influenza A. Las características que se estudiaron con más detalle concernientes a la intensidad de la viremia y duración de la infección son los cambios en las células epiteliales y en la carga viral. Según el modelo:

1. El segundo día después de la infección es el momento del máximo en la concentración de virus.
2. El incremento relativo de la concentración de virus de influenza es de aproximadamente 10^5 .
3. La concentración de virus de influenza baja considerablemente después del sexto día.

Estas son características generales que se mantienen según el análisis de sensibilidad respecto a perturbaciones moderadas de los parámetros.

A partir de los resultados de parametrización se puede concluir que un parámetro fundamental es la tasa de infección de las células epiteliales β_E . El estudio realizado considera como una tasa de infección más razonable y deseable $\beta_E = \frac{1}{4}\beta_E[c] = 1.75 \times 10^{-5}d^{-1}$. Esto debido a que con esta tasa se observa una disminución en las células epiteliales no infectadas que se mantiene en el mismo orden de magnitud que el número inicial, lo cual corresponde con el hecho de que en el pico de la enfermedad aproximadamente del 30 al 50 % del epitelio de las vías respiratorias superiores es destruido [1].

Se observó también que el tratamiento de la enfermedad por medio de la combinación de drogas antivirales con una efectividad del 75 % ($\epsilon_1 = \epsilon_2 = 0.75$) otorga una recuperación de las células epiteliales. Lo mismo sucede con la introducción de un factor de recuperación para estas células. De modo que en base a lo anterior se obtiene la recuperación y el control de la enfermedad.

El análisis del espacio fase provee a su vez una forma alternativa de estudiar la dinámica. Gracias a éste se puede apreciar lo robusto del modelo al notar el hecho de que las modificaciones en las trayectorias al cambiar los parámetros son básicamente una cuestión de escala, sin cambios abruptos entre las formas.

Por otro lado, al aumentar el tiempo de evolución del sistema se observó un cambio en las trayectorias en el espacio fase, lo que hizo posible notar la existencia de un resurgimiento de la infección. Más aún, después de este resurgimiento el sistema alcanza un estado estacionario con poblaciones virales y de células infectadas distintas de cero. El resurgimiento mencionado se refiere a un incremento en la población patógena de un hospedero que se observa tiempo después del incremento inicial. No resulta del contagio repetido ni de la variación antigénica del patógeno. Aún cuando este comportamiento de la respuesta inmune

de los humanos a la influenza no se conoce, podemos comparar con evidencias clínicas observadas en pacientes con otras infecciones por virus cuyo genoma está constituido por ARN, como el virus del VIH [11], [12] y [13]. En este caso se ha observado que cuando se administra terapia antiretroviral altamente activa por periodos largos de tiempo, la mayoría de los pacientes alcanza cargas virales indetectables (cantidad de ARN de VIH < 50 copias/ml). Sin embargo, en algunas ocasiones la carga viral puede encontrarse por arriba del límite de detección y ser un indicador de episodios intermitentes de un aumento en la replicación viral. Los resultados de este análisis muestran entonces que en este modelo el paciente conserva un reservorio de virus de bajo nivel y las células epiteliales nunca se recuperan al nivel inicial. De modo que una disminución en la respuesta inmune pudiera dar lugar al resurgimiento de la infección.

Un modelo matemático realista de la enfermedad se puede desarrollar a partir de un número de modelos más sencillos que toman en cuenta las poblaciones celulares más relevantes en la infección. Las correcciones necesarias de los modelos simplificados no deben alterar las herramientas descriptivas principales. El análisis de sensibilidad en el modelo revela que las variaciones en los parámetros del sistema virus-célula epitelial influyen más en el desarrollo de la infección que aquellos de la respuesta inmune antiviral, por lo que en esta ocasión se reduce el modelo a 3 ecuaciones obteniendo así información de manera cualitativa del sistema sin respuesta inmune. Los resultados muestran que mecanismos tempranos no específicos juegan un rol vital en limitar la propagación del virus de influenza durante la fase inicial de la infección, antes de que la respuesta inmune específica sea capaz de tener bajo control el proceso infeccioso. Este hecho coincide con los resultados de Bocharov y Romanyukha.

Este análisis permitió además llevar a cabo un estudio del papel de los parámetros involucrados en el resurgimiento de la infección, a partir del cual se obtuvo que el resurgimiento ocurre excepto cuando disminuye la tasa de muerte de las células epiteliales infectadas δ_{E^*} y la tasa de desaparición de virus c_V , aunque existen consecuencias como es el aumento de la carga viral respecto del caso control. Nuevamente el remanente de viremia podría ser real o podría ser un artificio del modelo asociado a que el sistema biológico no está descrito de manera completa.

Finalmente, este modelo es una simplificación de un proceso biológico complejo. Su nivel de certidumbre depende de la validez de las suposiciones hechas al construir el modelo, así como de los valores de los parámetros elegidos en él. La evolución de la transmisibilidad, antigenicidad, virulencia y resistencia antiviral del virus de influenza es muy difícil de predecir, por lo que la utilidad de los modelos radica en que estos desafían suposiciones, exploran escenarios alternativos y sugieren nuevos experimentos.

Referencias

- [1] G.A. Borachov, A.A. Romanyukha. "Mathematical Model of Antiviral Immune Response III. Influenza A Virus Infection" *J. Theor. Biol.* 167, 323-360 (1994)
- [2] B. Hancioglu, D. Swigon, G. Clermont. "A dynamical model of human immune response to influenza A virus infection" *Journal of Theoretical Biology* Vol. 246, 70-86 (2007)
- [3] P. Baccam, C. Beauchemin, C.A. Macken, F.G. Hayden, A.S. Perelson. "Kinetics of Influenza A Virus Infection in Humans" *Journal of Virology* Vol. 80, No. 15, 7590-7599 (2006)
- [4] H.Y. Lee, D.J. Topham, S.Y. Park, J. Hollenbaugh, J. Treanor, T.R. Mosmann, X. Jin, B.M. Ward, H. Miao, J. Holden-Wiltse, A.S. Perelson, M. Zand, H. Wu. "Simulation and Prediction of the Adaptive Immune Response to Influenza A Virus Infection" *Journal of Virology* Vol. 83, No. 14, 7151-7165 (2009)
- [5] H. Mitchell, et.al. "Higher Level of Replication Efficiency of 2009 (H1N1) Pandemic Influenza Virus than Those Seasonal and Avian Strains: Kinetics from Epithelial Cell Culture and Computational Modeling" *Journal of Virology* Vol. 85, No. 2, 1125-1135 (2011)
- [6] Página web http://www.icecoldstocks.com/investors_health/lymphatic.gif
- [7] Página web de Wikipedia http://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page
- [8] Página web <http://www.bch.cuhk.edu.hk/influenza/images/virus.jpg>
- [9] Página web de la Organización Mundial de la Salud http://www.who.int/csr/don/2010_05_14/en/
- [10] A. Perelson. "Modelling Viral and Immune System Dynamics" *Nature Reviews* Vol. 2 (2002)
- [11] L.E. Jones, A.S. Perelson. "Opportunistic infection as a cause of transient viremia in chronically infected HIV patients under treatment with HAART" *Bulletin of Mathematical Biology* 67, 1227-1251 (2005)
- [12] E. Papasavvas, et.al. "HIV-1-Specific CD4+T Cell Responses in Chronically HIV-1 Infected Blippers on Antiretroviral Therapy in Relation to Viral Replication Following Treatment Interruption" *Journal of Clinical Immunology* Vol. 6, No. 1, 40-54 (2006)
- [13] J.K. Percus, et. al. "The Distribution of Viral Blips Observed in HIV-1 Infected Patients Treated with Combination Antiretroviral Therapy" *Bulletin of Mathematical Biology* 65, 263-277 (2003)
- [14] C. Villareal trabajo en proceso

- [15] C. Frasier, C. Donnelly. "Pandemic Potential of a Strain of Influenza A (H1N1): Early Findings" *Science* Vol. 324, No. 5934, 1557-1561 (2009)
- [16] B.J.Coburn, B.G. Wagner, S. Blower. "Modeling influenza epidemics and pandemics: insights into the future of swine flu (H1N1)" *BMC Medicine Review* 7:30 (2009)
- [17] Página web de la Secretaría de Salud México <http://portal.salud.gob.mx/contenidos/noticias/influenza/estadisticas.html>
- [18] R.A. Goldsby, T.J. Kindt, B.A. Osborne, J. Kuby. "Inmunología" 5a Edición. McGrawHill. México. 2006
- [19] S. Freeman, J.C. Herron. "Análisis Evolutivo" 2a Edición. Prentice Hall. España. 2002
- [20] D. Kaplan, L.Glass. "Understanding Nonlinear Dynamics" Springer-Verlag. Estados Unidos. 1995
- [21] Goldstein, H. A. "Classical Mechanics" 2a edición , Addison-Wesley, 1980.
- [22] C.Castillo-Chavez, S. Blower, P. van der Driessche, D. Kirshner, A. Yakubu. "Mathematical Approaches for Emerging and Reemerging Infectious Diseases: An Introduction" Springer. Estados Unidos. 2002
- [23] N.I. Stilianakis, A.S. Perelson, F.G. Hayden. "Emergence of Drug Resistance during an Influenza Epidemic: Insights from a Mathematical Model" *The Journal of Infectious Diseases* 177, 863-873 (1998)
- [24] E.C. Holmes. "1918 and All That" *Science Magazine* (2009)
- [25] J. Stevens, O. Blixt, T.M. Tompey, J.K. Taubenberger, S.C. Paulson, I.A. Wilson. "Structure and Receptor Specificity of the Hemagglutinin from an H5N1 Influenza Virus" *Science* 312, 404 (2006)
- [26] Industrial Farm Animal Production in America. A Report of the Pew Commission on Industrial Farm Animal Production
- [27] J.S. Brownstein, C.C. Freifeld, L.C. Madoff. "Digital Disease Detection - Harnessing the Web for Public Health Surveillance" *The New England Journal of Medicine* 360; 21, 2153-2157 (2009)
- [28] K.A. Richards, F.A. Chaves, A.J. Sant. "Infection of HLA-DR1 transgenic mice with a human isolate of influenza A (H1N1) primes a diverse CD4 T cell repertoire that includes CD4 T cells with heterosubtypic cross-reactivity to avian (H5N1) influenza" *JVI Accepts* (2009)
- [29] J. Stevens, A.L. Corper, C.F. Basler, J.K. Taubenberger, P. Palese, I.A. Wilson. "Structure of the Uncleaved Human H1 Hemagglutinin from the Extinct 1918 Influenza Virus" *Science* Vol. 303, 1866-1870 (2004)

- [30] R.J. Garten, C.T. Davis, C.A. Russell. “Antigenic and Genetic Characteristics of Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans” *Scienceexpress* (2009)
- [31] Exclusive: CDC’s Flu Chief, Nancy Cox, Battling Fires at Home and Abroad, *Science News* (2009)
- [32] S.J. Gamblin, L.F. Haire, R.J. Russell. “The Structure and Receptor Binding Properties of the 1918 Influenza Hemagglutinin” *Science* Vol. 303, 1838-1842 (2004)
- [33] D. Butler. “Portrait of a year old pandemic” *Nature* 464, 1112-1113 (2010)
- [34] Página web del Monitoreo de Enfermedades Respiratorias <http://reporta.c3.org.mx/>
- [35] Página web del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades <http://espanol.cdc.gov/enes/h1n1flu/>
- [36] L. Rong, A.S. Perelson. “Modeling Latently Infected Cell Activation: Viral and Latent Reservoir Persistence, and Viral Blips in HIV-infected Patients on Potent Therapy” *PLoS Computational Biology* Vol. 5, Issue 10, e1000533 (2009)
- [37] D.J.D. Earn, P. Rohani, B.M. Bolker, B.T. Grenfell. “A Simple Model for Complex Dynamical Transitions in Epidemics” *Science* Vol. 287, 667-670 (2000)
- [38] Wright, P., R. G. Webster. “Orthomyxoviruses” *Fields virology*, 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Pa. 1533–1579 (2001)