

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO. OD**

**PATRÓN DE RESISTENCIA GENOTÍPICA DEL VIH-1 EN
PACIENTES QUE VIVEN CON VIH/SIDA DEL HOSPITAL
GENERAL DE MÉXICO**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

INFECTOLOGÍA

PRESENTA

Dr. DARWIN STALIN TORRES ERAZO

**ASESORA DE TESIS:
DRA. HILDA HIDALGO LOPERENA**

M□□□□□□□□

A□□□T□□□□



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi esposa María José
Inspiración y ejemplo de perseverancia.
Confidente y amiga incondicional tu presencia y apoyo
fueron los pilares que me motivaron a continuar con mi sueño

A Ileana mi hija.
Quien involuntariamente hizo un enorme sacrificio
durante mi residencia marcando con ello
el ejemplo de paciencia constancia y fe

A mis padres y hermana Erasmo Teresita y Magaly
Quienes a pesar de la distancia física y la nostalgia
me han hecho sentir su presencia y el apoyo
continuo para cumplir con mis metas personales

A ti niño Miguelito por inspirar y motivarme
en la búsqueda constante de nuevos horizontes

A los pacientes
de cuyas enfermedades y dolor aprendí
mucho más que lecciones de Medicina.
Por ellos aprendí a ver la vida misma
en momentos de fragilidad y muerte.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la convicción y la certeza de su influencia en mi vida.

A la Dra.ilda Hidalgo Loperena profesora titular del curso de especialización en infectología por su apertura y la confianza depositada en mí desde la primera vez que llegué al Hospital General de México.

Al Hospital General de México. a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a la República Mexicana por haber sido las casas que me abrieron las puertas para concretar mi anhelo académico. Dentro del Hospital a los médicos especialistas adscritos al departamento de infectología quienes contribuyeron con sus conocimientos a fortalecer mi aprendizaje y experiencia profesional. Al personal de enfermería del área de infectología por su abierta e invaluable colaboración y apoyo en el ejercicio de la residencia. Un especial reconocimiento por su profesionalidad en el cuidado de personas con enfermedades infecciosas. A los pacientes atendidos en el servicio de infectología del HGM por su bondad y nobleza.

A mi madre Teresita por la confianza, la fortaleza y el amor ofrecido durante todo el tiempo que llevo viviendo lejos de casa. Su presencia y compañía fueron cruciales en tiempos de dificultad. A mi padre Erasmo por darme la motivación e inquietud en la búsqueda de respuestas a todo lo que existe a través de la lectura. A mi hermana Magalita y a ti tío Miguel por estar siempre presentes y dispuestos cuando lo necesito. En ustedes y su apoyo muchos de mis obstáculos habrían sido más difíciles de vencer.

A todos mis compañeros de residencia durante los años de formación. En particular a Ariana quien compartió conmigo muchos momentos de actividad académica cansancio, enojo, diversión, complicidad, etc. y cuya compañía fue inolvidable y provechoso el tiempo de mi residencia en infectología.

A Ernesto e Isa consuelo y Daniel y a sus familias por haber expandido la confianza depositada en nosotros después de que llegamos a esta nación y por el apoyo otorgado (como familiares o amigos) en todos los sentidos durante el tiempo de convivencia que llevamos en México. Dios los bendiga por sus insaciables muestras de afecto y apoyo.

A todas aquellas personas que omitidas es esta mención han participado y contribuido de alguna manera en la esquemática de mi pensamiento y desarrollo como profesional y persona.

Gracias a todos.

INDICE

Pag

Antecedentes	□
Introducción . Principios del desarrollo y Mecanismos de Resistencia a Drogas Antirretrovirales.....	□
Mecanismos de Resistencia.....	□
Resistencia Cruzada.....	□□
Pruebas de Resistencia.....	□□
Justificación del Estudio.....	□□
Objetivos.....	□□
Materiales y Métodos.....	□□
Resultados.....	□□
Discusión.....	□□
Conclusiones.....	□□
Bibliografía.....	□□

TÍTULO.

PATRÓN DE RESISTENCIA GENOTÍPICA DEL VIH-1 EN PACIENTES QUE VIVEN CON VIH / SIDA DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO. OD

ANTECEDENTES.

Cuando se identificó en 1981 el primer grupo de casos de neumonía por *Pneumocystis jiroveci* y carcinoma de mama, nadie imaginaba que ese sería el prólogo de una de las pandemias más significativas en la historia de la humanidad y que en menos de 20 años alrededor de 20 millones de personas estarían afectados por el virus que más tarde se denominó como virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Nuestro conocimiento de la enfermedad inició con el dramático crecimiento en el número de casos de infecciones oportunistas inusuales en personas sin inmunodeficiencia hereditaria previa. Apareció así el término de SIDA (síndrome de inmunodeficiencia Adquirida) y entró al vocabulario médico, pero no fue sino hasta 1984 que el agente causal fue identificado como un virus. Desde entonces se han hecho enormes progresos en la investigación del conocimiento y los intentos de controlar la progresión de la enfermedad, aun que la posibilidad de una cura todavía es muy distante.

Las drogas que actualmente se usan para tratar la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana incluyen varias clases entre las que están:

- Los análogos de nucleósidos y nucleótidos, los cuales actúan como terminadores de la cadena de RNA viral e inhiben la transcripción reversa del genoma viral, bloqueando un evento crucial que ocurre en un estadio temprano del ciclo vital del virus.
- Los inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa, los cuales ligan e inhiben a la transcriptasa reversa, que es la enzima que conduce la transcripción reversa de RNA en DNA.
- Los inhibidores de proteasa, cuyo objetivo es la proteasa viral que es la enzima requerida para la formación de las proteínas precursoras (gag y gag-pol), permitiendo el ensamblaje final de las partículas virales.
- Los inhibidores de entrada, los cuales bloquean la penetración de los viriones dentro de las células blanco.

Múltiples combinaciones de estos fármacos son utilizados actualmente para el tratamiento de la infección por VIH y han adoptado el nombre de Terapia Anti-retroviral Altamente Activa (TARAA) de su nombre en inglés ART.

Sin duda alguna, el tratamiento farmacológico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana ha probado contundentemente su efectividad en controlar la progresión de la enfermedad y prolongar la supervivencia, sin embargo estos beneficios pueden ser comprometidos por el desarrollo de resistencia a dichas drogas.

Desde hace varios años la Organización Mundial de la Salud (OMS) en colaboración con la Sociedad Internacional de SIDA y otras organizaciones alrededor del mundo han desarrollado programas globales de vigilancia para el desarrollo de resistencia a fármacos antirretrovirales con el propósito de ayudar a guiar los esfuerzos nacionales e internacionales de tratamiento.

Actualmente existen diferentes tipos de pruebas para evaluar la resistencia del VIH a los fármacos utilizados en su tratamiento. Las pruebas fenotípicas miden la susceptibilidad viral a drogas específicas mientras que las pruebas genotípicas definen mutaciones que pueden afectar la susceptibilidad de la droga. Otros abordajes interpretativos tales como el “fenotipo virtual” usan la información de una gran base de datos de virus con genotipos y fenotipos para predecir la probable característica de un virus en particular.

A pesar de que todavía no está bien establecido cual de estas pruebas proporciona información más útil para el tratamiento de los pacientes las pruebas genotípicas son generalmente menos caras y proveen resultados más rápidamente que los ensayos fenotípicos. Las pruebas fenotípicas pueden ser particularmente útiles en situaciones complejas como en la existencia de múltiples mutaciones en las que dichas mutaciones pueden interactuar haciendo a un virus más o menos susceptible a diferentes drogas.

Los mejores resultados se observan cuando las pruebas de resistencia se combinan con la opinión de un experto en la interpretación de estos estudios. La consulta con el experto evita interpretaciones incorrectas que pueden tener algunas veces consecuencias catastróficas. Las pruebas de resistencia a antirretrovirales deberán ser incorporadas al tratamiento de todos los pacientes que están recibiendo estas drogas ya que numerosos grupos han desarrollado guías de consenso para el uso de estas pruebas algunas de las cuales son actualizadas regularmente.

Las pruebas de resistencia también son útiles en varias situaciones clínicas como el momento previo al inicio de la terapia para una infección aguda o recientemente establecida y antes de cambiar un esquema de tratamiento debido a falla de un primero o múltiples esquemas. También están recomendadas para todas las mujeres embarazadas con viremia detectable a fin de optimizar el tratamiento de la madre y prevenir la transmisión de la infección al neonato.

El virus de la inmunodeficiencia humana ha probado ser un duro oponente y continuará desarrollando resistencia a cualquier droga antirretroviral nueva que sea introducida. Los propósitos y metas del tratamiento farmacológico en la infección por VIH son principalmente suprimir la replicación viral y reestablecer la función inmune celular. Sin embargo solamente cuando estas metas sean alcanzadas se podrá minimizar la resistencia viral farmacológica y maximizar las opciones terapéuticas para prolongar la vida de los pacientes que viven con VIH SIDA.

INTRODUCCIÓN.

Principios del Desarrollo y Mecanismos de Resistencia a Drogas Antirretrovirales.

La resistencia es la consecuencia de mutaciones que emergen en las proteínas virales que constituyen el blanco de los agentes antirretrovirales. Debido a que los virus resistentes a drogas a menudo exhiben resistencia a muchas clases de drogas antirretrovirales y debido también a que la resistencia cruzada entre las drogas dentro de una misma clase es frecuente, la emergencia de resistencia siempre complica los esfuerzos adicionales para controlar la replicación viral [1].

Existen dos conceptos importantes para entender el desarrollo de resistencia farmacológica inducida.

Primero la infección por VIH se caracteriza por la producción de altas cantidades de virus y en la mayoría de los pacientes no tratados el número total de células productivamente infectadas en el tejido linfóide se ha estimado en aproximadamente 10^9 a 10^{10} células. [2] Debido a que la vida media de las células infectadas es demasiado corta (unos días) el mantenimiento de este estado requiere que el virus infecte nuevas células a una velocidad muy alta.

Segundo, la población viral en una persona infectada es altamente heterogénea. La transcripción reversa del RNA viral en DNA es notoriamente tendiente al error, lo cual favorece la presencia de mutaciones en cada uno de los genomas virales transcritos. La mayoría de estos errores son sustituciones de bases, duplicaciones, inserciones y recombinaciones que también pueden ocurrir. La alta tasa de infección por VIH, combinada con la alta tasa de mutación que ocurre durante cada ciclo de infección, asegura que el paciente tenga una mezcla compleja y diversa de cuasi-especies, cada una diferente por una o más mutaciones. [3]

En algunos casos, las sustituciones de aminoácidos simples pueden producir altos niveles de resistencia. Debido a que una minoría de cuasi-especies virales son portadoras de mutaciones simples, se considera que estas existen antes de que el tratamiento sea iniciado. Para algunos agentes, las mutaciones simples pueden inducir solamente bajos niveles de resistencia, por lo que la resistencia completa o altos niveles de la misma requiere de una acumulación gradual de mutaciones adicionales. [4]

De lo anterior se puede deducir que al enfatizar en el contenido de la terapia antiretroviral altamente activa, la resistencia es más a menudo la consecuencia (no la causa) de un tratamiento inicial fallido. Una vez que la resistencia empieza a desarrollarse, el círculo vicioso de un incremento en la falla de tratamiento y un incremento en los niveles de resistencia, pueden llevar a situaciones en las cuales se hace imposible controlar la replicación viral con las drogas actualmente disponibles. [5]

En la resistencia primaria, los casos involucran la transmisión de cepas de VIH de pacientes en quienes la resistencia se ha desarrollado durante la terapia. No obstante,

algunas cepas de HIV son naturalmente resistentes a algunas drogas antirretrovirales. Por ejemplo el HIV tipo 1 es intrínsecamente resistente a algunos inhibidores de la transcriptasa reversa no nucleósidos. Por otro lado algunos subtipos de HIV pueden ser menos susceptibles a los inhibidores de proteasas o a los inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa. Las cepas del subtipo CRF01_AG son más prevalentes en algunos lugares como Estados Unidos y Europa.

Mecanismos de Resistencia

Desde la identificación de la presencia de resistencias en el virus de la inmunodeficiencia humana frente a las drogas utilizadas para el tratamiento se han hecho considerables progresos para identificar las mutaciones asociadas con dichas resistencias y para entender los mecanismos a través de las cuales esas mutaciones confieren dicha resistencia.

Resistencia a los Análogos de Nucleósidos y Nucleótidos

Los análogos de nucleósidos y nucleótidos inhiben la síntesis del RNA viral por bloqueo de la transcriptasa reversa. Después de la fosforilación por las cinasas celulares estos compuestos son incorporados por la transcriptasa reversa a la cadena nascente de RNA viral.

Dos mecanismos distintos están involucrados en la resistencia del virus a estas drogas: impedimento de la incorporación del análogo dentro del RNA y remoción del análogo de la cadena de RNA prematuramente terminada.

a) Impedimento de la incorporación del Análogo. –

Muchas mutaciones o grupos de mutaciones en la transcriptasa reversa pueden promover la resistencia por impedimento selectivo de la capacidad de la enzima para incorporar un análogo dentro del RNA. Estas mutaciones incluyen esencialmente la mutación M184V y el complejo de mutaciones M184I/M y la mutación K65R.

La mutación M184V involucra el reemplazo de una metionina por valina en la posición 184 de la transcriptasa reversa y es la mayor mutación que confiere resistencia a lamivudina.

Un grupo de mutaciones referidas como el complejo M184I/M es a menudo seleccionado en el curso de esquemas fallidos de tratamiento que contienen estavudina y didanosina. Este complejo es relativamente raro en el HIV pero puede conferir altos niveles de resistencia a la mayoría de análogos excepto lamivudina y tenofovir. Interesantemente este complejo es mucho más frecuente en el HIV que en el HIV.

La mutación K65R se ha visto con incrementada frecuencia en los pacientes cuya terapia con análogos de nucleosidos o nucleótidos a fracasado especialmente cuando el régimen incluye tenofovir o abacavir. La presencia de esta mutación confiere resistencia a casi todos los análogos con excepción de la zidovudina.

b) Remoción del Análogo de la cadena RNA viral.

La remoción del análogo de nucleósido de la cadena terminada de RNA está asociada a un grupo de mutaciones comúnmente denominadas “mutaciones análogas de timidina” (TAMs). Las mutaciones de este grupo se seleccionan

después de la falla terapéutica de combinaciones farmacológicas que incluyen análogos de timidina tales como la didovudina y estavudina sin embargo estas mutaciones pueden promover la resistencia a casi todos los análogos nucleósidos y nucleótidos incluyendo el tenofovir. [1]

Tabla 1

Mutaciones de Resistencia en la Transcriptasa Reversa del VIH frente a Análogos de Nucleósido y No nucleósidos

Mutación	Característica
M184L [1][2][3]	In vitro causa altos niveles de resistencia a AZT y bajos niveles de resistencia a ddI y AZD
[1][2][3] L184V	La línea que compromete a T184C y L184V está asociada con reducción de la respuesta a AZT
T184C [T184C] [1][2][3][4][5][6]	Observada en la mayoría de virus resistentes al tratamiento con lamivudina confiere altos niveles de resistencia a AZT in vitro además de que puede interferir con la resistencia a ddI cuando el número de TAMs es pequeño y puede incrementar el nivel de resistencia a ddI y AZD
M184I	Para vía de resistencia del [1][2][3] a los análogos de nucleósidos. In vitro causan alto nivel de resistencia a los análogos de nucleósidos excepto lamivudina y tenofovir.
[1][2][3]M [1][2][3][4] [1][2]L [1][2][3] A184G	Inserción de uno más aminoácidos (usualmente serinas) cerca del codón [1][2] emerge solamente en virus que tienen muchas mutaciones análogas de timidina y confiere altos niveles de resistencia a todos los análogos de resistencia
[1][2][3] [1][2][3][4] L184V	Seleccionada por Zalcitabina Abacavir y Tenofovir Seleccionada por Abacavir Seleccionada por Didanosina usualmente cuando esta es el único análogo nucleósido.
[1][2][3][4]	Mutación mas frecuentemente seleccionada por la terapia con efavirenz aunque ocasionalmente puede seleccionarse por nevirapine y confiere alto nivel de resistencia a todos los AZT
[1][2][3][4] [1][2][3][4] [1][2][3][4]	Mutaciones frecuentemente seleccionadas por nevirapine. Confiere altos niveles de resistencia a nevirapine pero bajos niveles de resistencia a efavirenz
L184V [1][2][3]A [1][2][3]A [1][2][3][4]	Con mutaciones que se acumulan durante una terapia inefectiva prolongada con la mayoría de los AZT

Resistencia a los Inhibidores No Nucleósidos de la Transcriptasa Reversa.

Los inhibidores no nucleósidos de la Transcriptasa Reversa son pequeñas moléculas que tienen una alta afinidad por un bolsillo hidrofóbico localizado en la cercanía del dominio catalítico de la Transcriptasa Reversa (TR).

La unión de los inhibidores afecta la flexibilidad de la enzima bloqueando así su capacidad para sintetizar RNA. Las mutaciones que son seleccionadas después de la falla al tratamiento con TRN son localizados en el bolsillo de estos compuestos y entonces reducen la afinidad de la droga. La resistencia a nevirapina está asociada a menudo con la mutación Y181C sin embargo otras mutaciones tales como Y181C, Y181I, Y181V, Y181L y Y181M también pueden estar presentes. La resistencia inicial a efavirenz es caracterizada generalmente por la mutación Y181C pero la mutación Y181L también se ha asociado con alguna frecuencia (tabla 1).

Resistencia a Inhibidores de Proteasa

La proteasa del VIH es la enzima encargada de cortar en sitios específicos grandes moléculas precursoras que posteriormente se convierten en las proteínas estructurales y enzimas necesarias para el ensamblaje de las partículas virales infecciosas. En la ausencia de una proteasa funcional las partículas virales son producidas pero son inmaduras y no infecciosas.

La resistencia a los inhibidores de proteasa es la consecuencia de sustitución en aminoácidos que emergen del lado dominante que liga el sustrato de la enzima o en sitios distantes. Directa o indirectamente estos cambios en los aminoácidos modifican en número y la naturaleza de los puntos de contacto entre los inhibidores y la proteasa reduciendo consecuentemente su afinidad por la enzima.

Algunas mutaciones son seleccionadas solo por ciertos inhibidores de proteasas reflejando particularidades en la estructura química de los inhibidores que influye en su interacción con el dominio ligador del sustrato de la enzima.

La resistencia a los inhibidores de proteasas también puede ser promovida por mutaciones en algunos de los sustratos virales naturales de la proteasa (2).

Resistencia a los Inhibidores de Fusión

El virus de inmunodeficiencia tipo 1 entra en las células blanco a través de una intrincada secuencia de interacciones entre el complejo de glicoproteínas de la envoltura (gp120/gp41) y receptores de superficie celular específicas (3). Los pasos tempranos en este proceso permiten que gp120 el componente fusogénico del complejo interactúe con la membrana celular permitiendo al virus cumplir con su objetivo. Las membranas del virus y las células blanco son entonces fusionadas en una cercana proximidad por reareglo de gp41. Un péptido derivado de la región hidrofóbica gp41 desestabiliza este proceso por unión a gp41 y bloquea la infectividad de gp41. La resistencia viral a enfuvirtide usualmente resulta de mutaciones localizadas en un segmento pequeño de aminoácidos dentro de gp41. Interesantemente los cambios en los aminoácidos gp41 fuera de gp41 parecen estar asociados con diferencias significativas en la susceptibilidad del virus a

enfuvirtide. Estas mutaciones o polimorfismos probablemente explican el amplio rango natural de susceptibilidad a enfuvirtide entre

las cepas 1000 y podrán participar en la evolución de una resistencia adquirida a enfuvirtide.

Los principales mutaciones de los inhibidores de proteasa y sus características son enumerados en la tabla 1

Tabla 1

Mutaciones de Resistencia en el VIH frente a Inhibidores de Proteasa	
Mutación	Característica
L10M	Mutación de resistencia frecuente observada durante la falla de la terapia con la mayoría de los inhibidores de proteasa aun que se seleccionan frecuentemente por saquinavir
100A100T10000	Mutaciones comunes de resistencia. Pueden emerger tempranamente durante la falla terapéutica con la mayoría de los inhibidores de proteasa. Constituyen las mutaciones más frecuentemente seleccionadas por ritonavir e indinavir
10000000000000	Mutaciones seleccionadas por delphinavir
L100L100 100000M M100M100M1L 100000L A100A1T 10000000M1L	Mutaciones que pueden acumularse durante la falla de tratamiento con la mayoría de los inhibidores de proteasa causando incrementos graduales en los niveles de resistencia.
1000	Frecuentemente encontrada después una terapia inefectiva prolongada con inhibidores de proteasa y asociada a altos niveles de resistencia
1000	Exclusivamente seleccionada por saquinavir
L100	Emerge ocasionalmente en la falla terapéutica durante la terapia con indinavir aun que también se ha presentado con lopinavir
10000000	Seleccionadas por la terapia con amprenavir
10000000L	Mutaciones raras que confieren altos niveles de resistencia a la mayoría de los inhibidores de proteasa
A1000 L1000	Mutaciones en gag el mayor sustrato viral de la proteasa. Incrementa la resistencia y compensa parcialmente la pérdida de resistencia asociada a la capacidad replicativa

Resistencia Cruzada

La resistencia cruzada se define como la resistencia a drogas a las cuales el virus además en estado expuesto y es el resultado de mutaciones que han sido seleccionadas por el uso de otras drogas.

La resistencia cruzada es aquella que está siempre restringida a una misma clase de agentes antirretrovirales pero que afecta a los tres grupos de drogas. En las etapas tempranas de la evolución de resistencia a los análogos nucleosidos o inhibidores de proteasa los virus pueden tener bajos niveles de resistencia cruzada a los agentes alternativos dentro de cada una de las dos clases de drogas. Por otro lado estas cadenas pueden necesitar adquirir solo una o pocas mutaciones adicionales a esta estructuración preexistente confiriendo altos niveles de resistencia cruzada. Además en pacientes infectados con cadenas que tienen bajos niveles de resistencia cruzada el cambio hacia una droga alternativa aparentemente activa puede estar acompañada por una rápida selección de variantes altamente resistentes de cambios minimamente evolucionados.

Pruebas de Resistencia

Debido a la importancia de la resistencia viral tanto como fenómeno cardinal de la falla virológica como por su influencia en la selección de tratamientos posteriores o de rescate la resistencia cruzada y la cada vez más frecuente transmisión de cepas resistentes se han puesto a punto ensayos que detectan la resistencia y su uso se ha diseminado rápidamente.

Existen dos ensayos de resistencia usados para evaluar al virus y la estrategia de tratamiento el ensayo genotípico y el fenotípico.

Pruebas Genotípicas

Las pruebas genotípicas detectan mutaciones de resistencia a fármacos presentes en genes relevantes del virus.

Ciertas pruebas genotípicas hacen secuenciación completa de los genes de la proteasa y la transcriptasa reversa mientras que otras usan pruebas para detectar mutaciones seleccionadas que se conocen como origen de resistencia farmacológica. Los ensayos genotípicos pueden realizarse rápidamente y los resultados pueden ser reportados dentro de 1-2 semanas después de colectada la muestra. La interpretación de los resultados de las pruebas requiere del conocimiento de las mutaciones que son seleccionadas por diferentes drogas antirretrovirales y del potencial de resistencia cruzada con otras drogas conferida por ciertas mutaciones.

Pruebas Fenotípicas

Las pruebas fenotípicas miden la habilidad del virus para crecer en diferentes concentraciones de drogas antirretrovirales. Este tipo de ensayos están disponibles comercialmente y sus resultados pueden obtenerse en 1-2 semanas sin embargo estas pruebas son más costosas que las pruebas genotípicas.

Las pruebas fenotípicas recombinantes involucran la inserción de secuencias genéticas de la transcriptasa reversa y de la proteasa de un paciente VIH positivo dentro de una clona viral del laboratorio obtenida por clonación o por recombinación *in vitro*.

La replicación del virus recombinantes a diferentes concentraciones de una droga es monitoreado por la expresión de un gene reportero y es comparado con la replicación de una cepa de VIH de referencia.

Las concentraciones de la droga que inhiben 50% y 90% de la replicación viral (IC_{50} e IC_{90}) son calculadas y la proporción del IC_{50} del test y el virus de referencia es reportado como el incremento al doble en la IC_{50} .

JUSTIFICACIÓN

La introducción de la Terapia Antirretroviral Altamente Activa (TAA) ha sido fundamental para mejorar el pronóstico de las personas que viven con el VIH. Sin embargo su uso está asociado con complicaciones serias tales como el desarrollo de resistencia viral que tiene un crucial interés debido a su importancia en la selección de tratamientos iniciales, subsecuentes o de rescate.

El conocimiento del perfil de resistencia permite interpretar las características de la resistencia cruzada, la probable transmisión de cepas resistentes y las posibilidades de ofrecer una alternativa de tratamiento.

Por esta razón se justifica la realización de este trabajo fundamentado en los siguientes argumentos:

- El conocimiento del patrón de resistencia genotípica a los antirretrovirales de los pacientes que acuden al Hospital General de México permitirá orientar las decisiones terapéuticas en casos de falla virológica de los pacientes que no pueden costear económicamente la realización de una prueba de resistencia evitando con ello la acumulación de un mayor número de mutaciones que complicarían el manejo terapéutico de estos pacientes.
- No existe información documentada acerca de las características de tratamiento, respuesta clínica y tendencia de los esquemas de tratamiento antirretroviral de los pacientes con resistencia farmacológica que acuden a la clínica de VIH del Hospital General de México.
- Existe poca información acerca del perfil de resistencia viral a los medicamentos usados en el manejo de la infección por VIH en población seropositiva al virus de inmunodeficiencia humana en México.

OBJETIVOS

- Conocer el patrón de resistencia genotípica a los fármacos antirretrovirales utilizados en los esquemas de tratamiento actual de pacientes que viven con VIH tipo 1 y se encuentran bajo vigilancia médica y seguimiento en la clínica de VIH del Hospital General de México. □
- Conocer las principales mutaciones presentes en la Transcriptasa Inversa y la Proteasa del VIH que confieren resistencia a los fármacos antirretrovirales de los pacientes atendidos en el Hospital General de México.
- Conocer los factores asociados y las principales causas probables de falla terapéutica con los esquemas de tratamiento utilizados en pacientes que poseen un genotipo de resistencia
- Describir y conocer el patrón de respuesta al tratamiento antirretroviral a largo plazo reflejado en la evolución de la carga viral y el recuento de células CD4 de los pacientes con reporte genotípico de resistencia.
- Describir las principales tendencias de asociación farmacológica empleadas en los pacientes que tienen una prueba genotípica de resistencia y que son vigiladas en la clínica de VIH del Hospital General de México.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Diseño

Se realizó un estudio descriptivo transversal retrospectivo basado en los reportes de resistencia genotípica existentes en los expedientes clínicos de los pacientes que viven con el virus de inmunodeficiencia humana y que son atendidos en la clínica de VIH del Hospital General de México DF.

Método

Se elaboró un formato de recolección de datos para cada paciente.

En el formato se registró la información relacionada con datos socio demográficos factores de riesgo para infección por VIH coinfección viral lapsos entre las variables tratamiento farmacológico antirretroviral genotipo con las principales mutaciones identificadas y los resultados de carga viral y recuento de linfocitos tanto del inicio del tratamiento como de los controles subsecuentes.

Se revisaron todos los expedientes del archivo de la clínica de VIH que se encuentran en el servicio de infectología del Hospital General de México DF.

Los expedientes seleccionados para ser incluidos en el análisis debieron cumplir con los siguientes criterios:

- Pertenecer a pacientes vigentes y regulares de la clínica de VIH del Hospital General.
- Tener un genotipo de resistencia escrito como requisito indispensable.
- Contar con reportes de carga viral y recuento de linfocitos tanto del inicio del tratamiento como de controles subsecuentes (al menos hasta la semana 10 o más)

Se excluyeron de la revisión general aquellos expedientes que estaban incompletos inactivos desactualizados o dados de baja.

No se hizo diferencia de género ni de procedencia para incluir a los expedientes en el análisis.

Análisis Estadístico

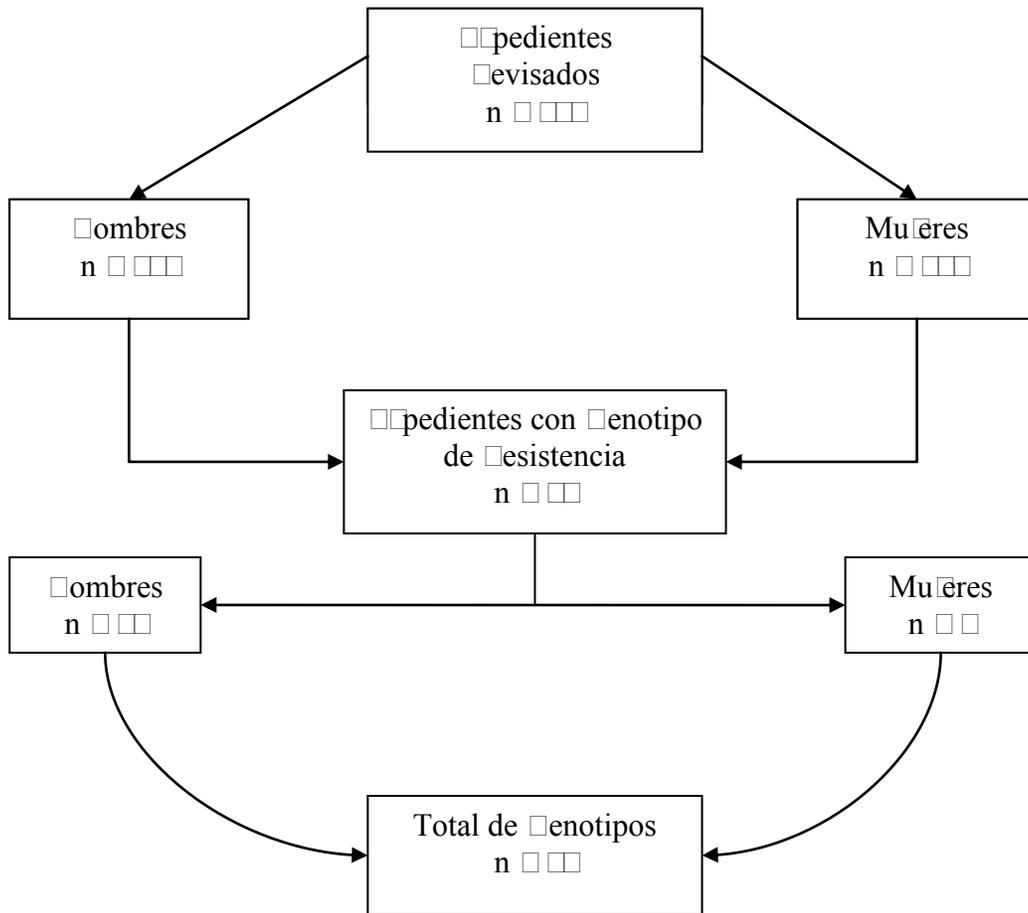
El análisis se realizó mediante estadística descriptiva para cada una de las variables establecidas usando el software estadístico SPSS 20.0.

RESULTADOS

Se incluyeron para la revisión general en búsqueda de genotipos HIV-1 e HIV-2 que cumplían con el criterio de vigencia y regularidad. De este total de e HIV pertenecían a pacientes del género masculino y 100 a pacientes del género femenino. Se encontraron 10 e HIV que cumplían con los criterios de selección y poseían uno o más genotipos de resistencia del HIV a fármacos antirretrovirales (5 entre los hombres y 5 entre las mujeres). El total de genotipos encontrados entre todos los e HIV fue de 10 .

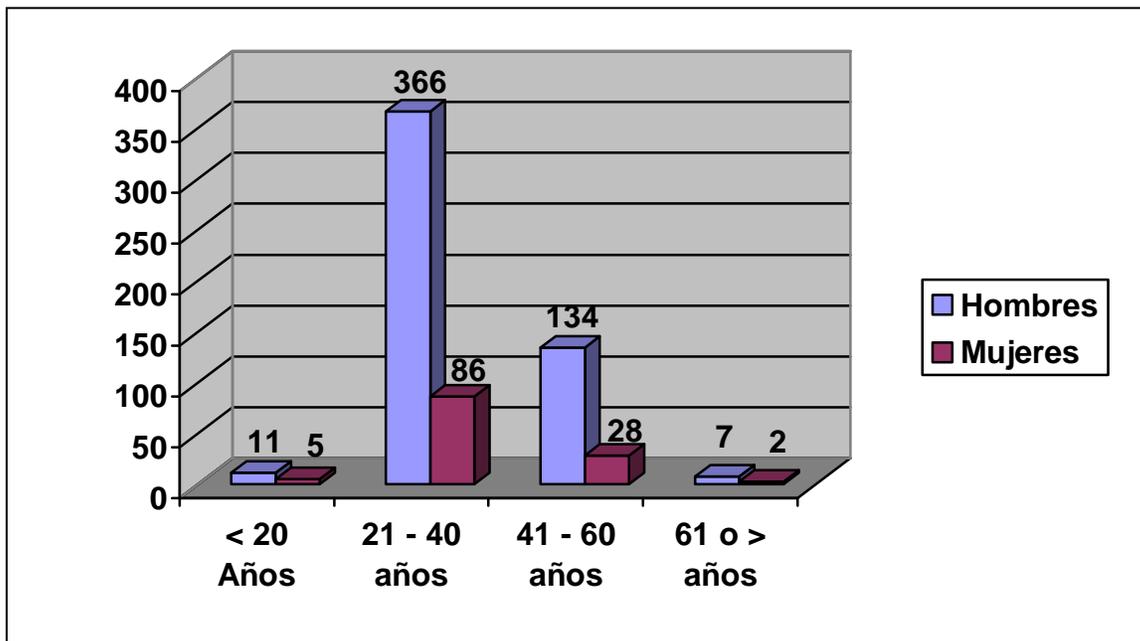
El número de individuos por grupo de edad en cada género del total de e HIV revisados se muestran en el gráfico 1 .

Gráfico 1. Distribución de los individuos por grupo de edad y género.



Entre los sujetos con genotipo de resistencia la media de edad para los hombres fue de 36 años (rango 21-60) y para las mujeres de 36 años (rango 21-60) sin diferencia estadísticamente significativa al compararlos.

Gráfico



Distribución de Hombres y Mujeres por grupo de edad de la Totalidad de Expedientes Revisados
 Total : n = 639 Hombres : n = 518 Mujeres : n = 121

En relación a los datos socio-demográficos factores de riesgo y enfermedades asociadas al VIH los hallazgos de los sujetos incluidos en el análisis fueron los siguientes:

- Estado civil
 - a. Solteros(as)
 - b. Casados (as)
 - c. Viudos (as)
 - d. Unión Libre
 - e. Divorciado
 - f. Desconocido o no registrado
- Procedencia
 - a. Estado de México
 - b. Distrito Federal
 - c. Desconocido o no registrado
- Factor de riesgo para VIH
 - a. Transmisión sexual (incluyendo promiscuidad heterosexual y homosexual y a partir de la pareja)
 - b. Transfusional
 - c. Desconocido o no registrado

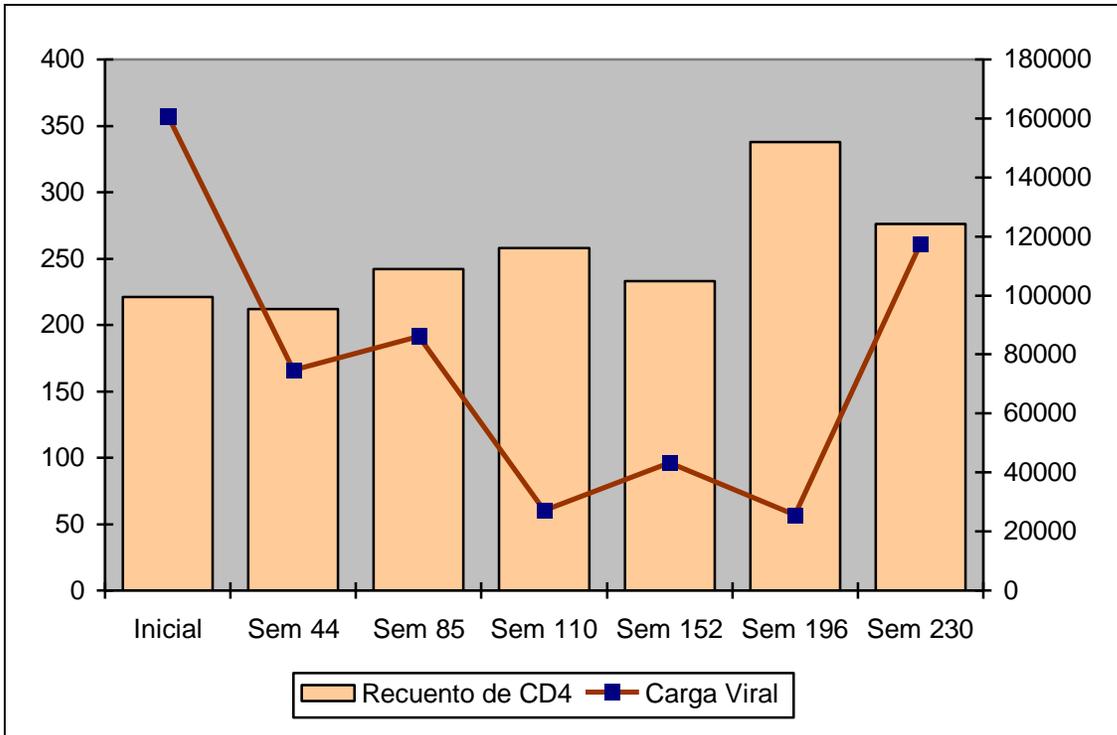
- Enfermedades oportunistas en el diagnóstico (infecciosas o no)
 - a. Herpes cistocist
 - b. Toxoplasmosis del sistema nervioso central
 - c. Criptococosis del sistema nervioso central
 - d. Tuberculosis pulmonar y/o Miliar
 - e. Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*
 - f. Diarrea por patógenos oportunistas
 - g. Candidosis esofágica
 - Condilomatosis genital y/o Anal
 - i. Infección por citomegalovirus
 - Carcinoma epidermoide cervical
 - Lin enfermedad
- Infección por virus de la hepatitis
 - a. Hepatitis viral ()
 - b. Hepatitis viral ()
 - c. In infección
 - d. Desconocido o no registrado

Los resultados relacionados con la carga viral y de los pacientes incluidos en este análisis mostraron que las mujeres tenían una carga viral inicial media de copias/ml () y los hombres de copias/ml () lo cual comparativamente demostró una diferencia estadísticamente significativa ().

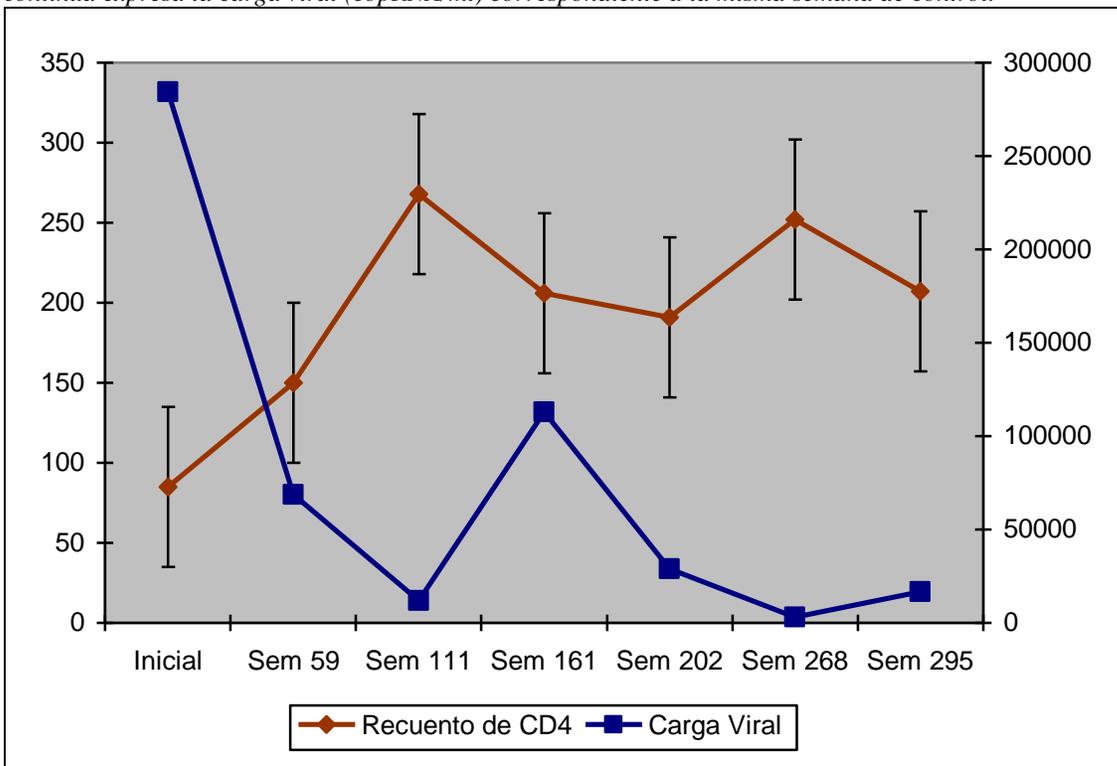
El recuento inicial promedio de células en el grupo de los hombres fue de células/μl () y en el de las mujeres de células/μl () sin evidenciarse ninguna diferencia estadística de interés ().

El lapso transcurrido entre el diagnóstico de infección por VIH y la realización del primer genotipo tuvo una media de semanas para los hombres y de semanas para las mujeres sin que esta diferencia muestre algún significado estadístico. Los primeros controles de y (controles) se realizaron en la semana () y () para el caso de las mujeres y en las semanas () y () para el caso de los hombres respectivamente.

En el gráfico y se muestra en detalle la evolución de la carga viral y de los hombres y las mujeres que tienen genotipo (s) de resistencia frente a los fármacos antirretrovirales. Todos los pacientes incluidos en esta investigación reciben el tratamiento antirretroviral en los programas de medicamentos antirretrovirales gratuitos de la Ciudad de México y en unos pocos casos en otras instituciones (eg. pública bancaria).



□ gráfico □ Evolución de la CV y CD4 de los Hombres con Genotipo de Resistencia. Las barras representan la media de recuento celular CD4 (cels/ul) en la semana promedio en la que fueron realizados. La línea continua expresa la carga viral (copRNA/ml) correspondiente a la misma semana de control.



□ gráfico □ Evolución de la CV y CD4 de los Mujeres con Genotipo de Resistencia. La línea con barras de error representa el recuento de células CD4 (cels/ul) en la semana promedio en la que fueron realizados. La línea continua expresa la carga viral (copRNA/ml) correspondiente a la misma semana de control.

Se encontraron genotipos que no mostraban ninguna mutación de resistencia frente a los fármacos antirretrovirales. Otros tenían mutaciones de resistencia solo frente a inhibidores de proteasa y otros genotipos tenían mutaciones de resistencia genotípica a los inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos y/o Análogos de Nucleósidos. Las principales mutaciones halladas en la Transcriptasa Inversa así como en la Proteasa se detallan en la tabla.

Tabla 1

**PRINCIPALES MUTACIONES DE RESISTENCIA EN EL VIH-1 DE
PACIENTES ATENDIDOS EN LA CLÍNICA DE VIH DEL HOSPITAL
GENERAL DE MÉXICO**

MUTACIONES EN LA TRANSCRIPTASA REVERSA

Mutación	Hombres	Mujeres
M184V	(1)	(0)
T184C	(1)	(0)
M184L	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V/I184L	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V/A184G	(1)	(0)
L184I/L184V	(1)	(0)
I184V/I184L	(1)	(0)
T184C	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
T184C	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V	(1)	(0)
I184V/M184I	(1)	(0)
L184I	(1)	
A184G	(1)	
I184V	(1)	
M184L	(1)	

Los números entre paréntesis representan la frecuencia con la que fueron encontradas las mutaciones en los genotipos de resistencia evaluados.

DISCUSIÓN.

No hay duda que el tratamiento antirretroviral combinado ofrece beneficios claros en cuanto a la calidad y esperanza de vida de las personas que viven con el VIH cambiando la perspectiva de la infección a un padecimiento crónico y tratable [1]

El presente trabajo inició demostrando que la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana sigue afectando preferentemente a los hombres en edad económicamente productiva y que el número de mujeres afectadas es también cada vez mayor lo cual concuerda plenamente con la epidemiología mundial del VIH en la actualidad. [2] y con las estadísticas disponibles en México a partir de fuentes como el INEGI que muestran que más del 50% de los hombres en el grupo de edad de 15 a 64 años son personas que viven con el VIH [3] [4] [5] [6] [7] [8] [9] [10] [11] [12] [13] [14] [15] [16] [17] [18] [19] [20] [21] [22] [23] [24] [25] [26] [27] [28] [29] [30] [31] [32] [33] [34] [35] [36] [37] [38] [39] [40] [41] [42] [43] [44] [45] [46] [47] [48] [49] [50] [51] [52] [53] [54] [55] [56] [57] [58] [59] [60] [61] [62] [63] [64] [65] [66] [67] [68] [69] [70] [71] [72] [73] [74] [75] [76] [77] [78] [79] [80] [81] [82] [83] [84] [85] [86] [87] [88] [89] [90] [91] [92] [93] [94] [95] [96] [97] [98] [99] [100]

Los datos socio-demográficos de los VIH-pacientes cuyos expedientes fueron evaluados no mostraron ninguna particularidad ni diferencia en cuanto a lo esperado salvo que en muchos de ellos no existe un registro completo o documentación escrita de información acerca de los factores de riesgo para la infección, infecciones concomitantes (eg. coinfección por virus de hepatitis), estado civil y procedencia.

La evolución en el tiempo de la carga viral y recuento de CD4 de los VIH-pacientes incluidos en el análisis muestra patrones habituales de comportamiento de la enfermedad principalmente durante las primeras semanas después de iniciado el tratamiento. Llama la atención que se haya encontrado una diferencia estadísticamente significativa en el valor de la carga viral cuando se comparó a los hombres con las mujeres pero ese resultado debe tomarse con cautela ya que el número de expedientes del grupo de mujeres es muy pequeño y comparativamente no es equiparable.

Es importante mencionar que la semana promedio de control de carga viral y CD4 está muy distante de las sugerencias de las guías de tratamiento antirretroviral y lineamientos de tratamiento [11]. Sin embargo este es un factor que probablemente no sea dependiente en su totalidad ni del médico ni del paciente dado que la gran mayoría de ellos realizan sus controles subsecuentes en la clínica condesa y dependen estrictamente de los recursos y del tiempo otorgado en esta unidad para la realización de dichos controles.

Uno de los hallazgos de interés en el análisis de los genotipos corresponde al lapso transcurrido desde el diagnóstico de infección a la realización del primer genotipo. Para el caso de los hombres ese lapso duró aproximadamente 10 años y para las mujeres de 15 años lo cual podrá estar lejos de la recomendación de las guías de uso de los ensayos de resistencia a antirretrovirales. [12] Este hallazgo podrá estar en parte justificado por el costo de las pruebas genotípicas de resistencia (que deben ser costeadas por el propio paciente) y por la indiferencia de los pacientes ante la necesidad de controles subsecuentes en tiempos adecuados para detectar tempranamente las fallas virológicas.

Los esquemas de tratamiento antirretroviral utilizados en la clínica de VIH del Hospital General de México mostraron una amplia posibilidad de combinaciones que están

inhibidores de proteasa causando aumentos graves en los niveles de resistencia a todos los fármacos inhibidores de la proteasa¹¹. Otro grupo de mutaciones de interés están relacionadas con **Q15A** que es una mutación común que emerge tempranamente con la mayoría de los inhibidores de proteasa y se seleccionan casi exclusivamente por la terapia con ritonavir e indinavir .

Las mutaciones **Q15R** y **Q15H** también presentes en nuestra población son mutaciones que se expresan por el uso de delphinavir¹¹ y deberán vigilarse todas aquellas mutaciones de novo que aparecen en la proteasa debido a que permitirían predecir patrones de resistencia.

No se encontraron mutaciones que sugirieran resistencia a los inhibidores de fusión considerando que dentro de la población estudiada existe un individuo que usa una triple combinación asociada a enfuvirtide y que fue usada como alternativa para la resistencia farmacológica igual que en algunos reportes¹¹

CONCLUSIONES

El patrón de resistencia genotípica de los pacientes que viven con VIH en Lima que se atienden en la Clínica del Hospital General de México, D.F. es similar a los patrones de resistencia genotípica reportados en la literatura médica universal y prácticamente no tienen ninguna particularidad que los difiera para su interpretación y aplicación clínica.

La ventaja de disponer de un amplio arsenal terapéutico ha permitido ofrecer múltiples opciones de manejo que a su vez han favorecido el desarrollo de los patrones de resistencia encontrados.

Los patrones de resistencia genotípica de los pacientes de la Clínica de VIH del Hospital General pueden ser analizados, interpretados y aplicados en igualdad de condiciones y probabilidades a todos los pacientes que presentan datos de falla terapéutica por multiresistencia.

Finalmente recalcamos en el beneficio de la consulta con un especialista en resistencia farmacológica del VIH debido a su gran utilidad y por que además ha sido demostrada por ensayos clínicos con el fin de facilitar la interpretación de los resultados de las pruebas genotípicas contribuyendo a optimizar los nuevos esquemas de tratamiento.

11 Palmer MA, Alaeus A, Albert H, et al. Drug susceptibility of subtypes A and B human immunodeficiency virus type 1 primary isolates. *AIDS* 1995; 9: 1005-1012.

12 Boucquier A, Hammac M, Clippel R, et al. High-level resistance to (S)-enantiomeric zidovudine in vitro is due to one amino acid substitution in the catalytic site of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1005-1012.

13 Versen A, Mafer M, et al. Multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 strains resulting from combination antiretroviral therapy. *AIDS* 1995; 9: 1005-1012.

14 Mafer M, et al. MA249. Merigan T. Zidovudine resistance reverse transcriptase mutations during didanosine monotherapy. *J Infect Dis* 1995; 171: 1005-1012.

15 Wang M, Mamic T, et al. Drug resistance during indinavir therapy is caused by mutations in the protease gene and in its P1/S1 cleavage sites. *AIDS* 1995; 9: 1005-1012.

16 Wilby M, Ron M, et al. Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. *Engl J Med* 1995; 333: 1005-1012.

17 Litvrou M, Annecouque E, et al. Activity of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors against HIV-1 and HIV-2. *AIDS* 1995; 9: 1005-1012.

18 Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud de la Secretaría de Salud. *Manual de Manejo Antirretroviral de las Personas que viven con el VIH/SIDA*. Ed. 1995.

19 WHO. Report on The Global AIDS Epidemic. www.who.gov

20 Registro Nacional de Casos de SIDA. Centro Nacional para la Prevención y el Control del SIDA. 1995.

21 Robins RW, Ruttola M, Mafer M, et al. Comparison of sequential T-free regimens as initial therapy for HIV-1 infection. *Engl J Med* 1995; 333: 1005-1012.

22 Tural C, Quiñones L, et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice in the Havana Trial. *AIDS* 1995; 9: 1005-1012.

23 Vicari P, Ferrini M, Silberstein P, et al. Novel human immunodeficiency virus Type 1 protease mutations potentially involved in resistance to protease inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995; 39: 1005-1012.

- 11 Miranda L, Witte M, Liang J et al. The L100 Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Transcriptase Reverse Transcription Inhibits the Action of Didanosine Monophosphate Associated with Thymidine Analogue Resistance Mutation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(1):111-114
- 12 Bertogs Floor, de Rooy J et al. A Novel Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Mutational Pattern Confers Genotypic Lamivudine Resistance in the Absence of Mutation at RT. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(1):115-118
- 13 Masquelier B, Pace N, Tamalet J et al. Genotypic and Phenotypic Resistance Patterns of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Variants with Insertions or Deletions in the Reverse Transcriptase. *Multicenter Study of Patients Treated with T Inhibitors*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(1):119-122
- 14 Goly J, Escamps B, Peytavin V et al. Evolution of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Resistance Mutations in Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors in HIV-1 Infected Patients Switched to Antiretroviral Therapy without T. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(1):123-126
- 15 Lalegari M, Henry J, Earn M et al. Enfuvirtide: An HIV Fusion Inhibitor for Drug Resistance and Infection in North and South America. *Engl J Med* 347(1):11-18
- 16 Margot M, Water M, Miller M. In vitro Human Immunodeficiency Virus Type 1 Resistance Selections with Combinations of Tenofovir and Emtricitabine or Abacavir and Lamivudine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(1):127-130