



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**INSTITUTO DE FÍSICA**

**ESTUDIO TEÓRICO – CLÍNICO DE LA DINÁMICA  
VIRAL TEMPRANA ANTE LA APLICACIÓN DE  
FÁRMACOS ANTIVIRALES EN PACIENTES  
INFECTADOS POR EL VIH**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA MÉDICA)**

**PRESENTA:  
LUIS ALBERTO RANGEL CHÁVEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. CARLOS VILLARREAL LUJÁN**

**COMITÉ TUTORAL:  
Dra. María Ester Brandan  
Dr. Germinal Cocho  
Dra. Leonor Huerta**

**MÉXICO, DF 2010**



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.

---

*“Sin duda alguna, es precisamente el asombroso progreso de las ciencias naturales el que constantemente vuelve abrirnos los ojos acerca de nuestra ignorancia, incluso en el campo mismo de las ciencias naturales. Esto da un nuevo sesgo a la idea socrática de ignorancia. Con cada paso que damos hacia adelante, con cada problema que resolvemos, no sólo descubrimos nuevos e irresueltos problemas, sino que también vamos descubriendo que, cuando más creíamos estar pisando terreno firme y seguro, más evidente se hace que todas las cosas son, en verdad, inestables y están siempre cambiando.”*

---

*K.R. Popper*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre y mis hermanos que han sido mi mayor motivación para seguir adelante en el desarrollo de mi vida académica y profesional.

Al Dr. Carlos Villarreal Luján por apoyar con su valioso tiempo y consejos el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. María Ester Brandan por sus valiosas observaciones que permitieron que este trabajo mejorara notablemente.

A los miembros del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, principalmente a la Dra. Mónica Viveros, por su valiosa contribución con los datos experimentales.

A mis sinodales por tomarse el tiempo de revisar este trabajo y enriquecerlo con sus puntuales observaciones.

A mi queridas Universidades: La Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y la Universidad Nacional Autónoma de México. Siendo ambas formadoras de mi espíritu crítico y humanista.

Al Instituto de Física por las facilidades prestadas durante mi estancia como estudiante en esta Institución.

A mis maestros por sus valiosos conocimientos y su orientación en el proceso de aprendizaje durante mi estancia en el posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico prestado durante dos años para que yo pudiera realizar mi labor académica sin contratiempos.

A mis entrañables amigos Reynaldo y Marco por acompañarme durante todo este proceso.

A todos mis amigos, viejos y nuevos, que forman parte de mi vida y han manifestado sus buenos deseos hacia mí.

A todos, mil gracias.

## INDICE

PREFACIO .....	6
CAPÍTULO 1 .....	10
1. EL SISTEMA INMUNITARIO .....	10
1.1. Células del sistema inmunitario .....	11
1.1.1. Células B .....	11
1.1.2. Células T .....	12
1.1.3. Células asesinas naturales .....	13
1.1.4. Fagocitos mononucleares .....	13
1.1.5. Células dendríticas .....	15
1.2. Órganos del sistema inmunitario .....	16
1.3. Órganos linfoides primarios .....	16
1.3.1. Timo .....	16
1.3.2. Médula ósea .....	16
1.3.3. Sistema linfático .....	17
1.4. Órganos linfoides secundarios .....	17
1.4.1. Ganglios linfáticos .....	17
1.4.2. Bazo .....	18
1.4.3. Tejido linfoide relacionado con mucosas .....	18
1.4.4. Tejido linfoide cutáneo .....	20
CAPÍTULO 2 .....	21
2. LA INFECCIÓN DEL VIH/ SIDA .....	21
2.1. Inmunopatología de la infección por el VIH .....	23
2.1.1. Estructura del VIH .....	24
2.1.2. Ciclo biológico del VIH .....	26
2.1.3. Etapas de la infección por el VIH <i>in vivo</i> .....	28
2.1.3.1. Etapas tempranas de la infección .....	28
2.1.3.2. Fase crónica de la infección .....	28
2.1.3.3. Estadio de SIDA .....	29
2.1.4. Mecanismos de linfocitopenia CD4 .....	30
2.1.4.1. Destrucción de CD4 por efecto citopático .....	30
2.1.4.2. Destrucción mediante mecanismos inmunitarios .....	30
2.1.4.3. Destrucción secundaria a la acción de proteínas tóxicas del virus .....	31
2.1.4.4. Bloqueo en la regeneración linfocitaria .....	31
2.1.4.5. Alteraciones en la redistribución linfocitaria .....	32
2.1.4.6. Hiperactivación y agotamiento del sistema inmunitario.....	32
2.1.5. Respuesta inmunitaria frente a la infección por VIH .....	32
2.1.5.1. Respuesta humoral .....	32
2.1.5.2. Respuesta celular .....	33
2.1.5.3. Fase crónica de la infección .....	33
2.1.5.4. Estadio avanzado de la enfermedad.....	33
2.1.6. Mecanismos de escape viral .....	34
2.1.6.1. Variabilidad genética .....	34
2.1.6.2. Mutaciones en los epítomos virales reconocidos por linfocitos T citotóxicos (CTL) .....	34
2.1.6.3. Características bioquímicas de la envoltura viral .....	34
2.1.6.4. Rapidez en el establecimiento de la infección .....	35

2.1.6.5. Latencia y reactivación .....	35
CAPÍTULO 3 .....	37
3. TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL .....	37
3.1. Inhibidores de la transcriptasa reversa .....	37
3.2. Inhibidores de proteasa .....	38
3.3. Tratamiento combinado .....	39
3.4. Otros enfoques antivirales .....	40
3.5. Efectos del tratamiento antirretroviral sobre el VIH en otros tejidos .....	41
3.6. Presencia de células infectadas latentemente .....	42
CAPÍTULO 4 .....	44
4. DINÁMICA DEL VIH <i>IN VIVO</i> .....	44
4.1. Dinámica del VIH: un modelo multicompartimental .....	50
4.1.1. Predicciones teóricas .....	61
CAPÍTULO 5 .....	68
5. ESTUDIO TEÓRICO – CLÍNICO DE LA DINÁMICA VIRAL TEMPRANA ANTE LA APLICACIÓN DE FÁRMACOS ANTIVIRALES EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH .....	68
5.1. OBJETIVOS .....	68
5.1.1. Objetivo general del Estudio .....	68
5.1.2. Objetivos específicos .....	68
5.2. MATERIAL Y MÉTODOS .....	68
5.2.1. Población de pacientes y diseño del estudio .....	68
5.2.2. Cuantificación de ARN viral en plasma .....	69
5.2.3. Conteo de linfocitos CD4 .....	70
5.2.4. Genotipo viral .....	70
5.2.5. Análisis estadístico .....	70
5.3. RESULTADOS .....	71
5.4. DISCUSIÓN .....	85
5.5. CONCLUSIONES .....	90
APÉNDICE I .....	92
SELECCION DE LOS PACIENTES .....	92
APÉNDICE II .....	93
CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	93
APÉNDICE III .....	102
Guía de manejo antirretroviral para las personas que viven con VIH/SIDA 2005-2006 de CENSIDA .....	102
APÉNDICE IV .....	103
Declaración de Helsinki .....	103
REFERENCIAS .....	107

# CAPÍTULO 5

## 1. ESTUDIO TEÓRICO – CLÍNICO DE LA DINÁMICA VIRAL TEMPRANA ANTE LA APLICACIÓN DE FÁRMACOS ANTIVIRALES EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH

### 1.1.OBJETIVOS

#### 1.1.1. Objetivo general del Estudio

Realizar un estudio teórico – clínico de la dinámica viral temprana en cohortes de pacientes infectados con el VIH – 1 una vez sometidos a terapia antirretroviral, con ayuda de un modelo matemático multicompartimental.

#### 1.1.2. Objetivos específicos

1. Verificar la existencia de una elevación en los niveles virales en las horas siguientes al inicio de la terapia HAART en pacientes vírgenes al tratamiento.

2. Estimar los parámetros más importantes ( $c_B$ ,  $\delta_I$  y  $k_{FL}$ ) que reproduzcan el comportamiento de la dinámica viral una vez iniciada la terapia antirretroviral, mediante el ajuste del modelo matemático multicompartimental a datos de pacientes.

3. Determinar los distintos ritmos de decaimiento del virus durante la aplicación del tratamiento.

4. Establecer posibles correlaciones entre la elevación de la carga viral al inicio del tratamiento y una buena prognosis.

## PREFACIO

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) continúa siendo un problema de salud mundial de una magnitud sin precedentes. Desde su surgimiento, el VIH ha provocado un estimado de 25 millones de fallecimientos en todo el mundo y ha generado profundos cambios demográficos en los países más afectados (<http://www.unaids.org/>).

Los datos epidemiológicos internacionales más recientes son portadores de algunas buenas noticias. En algunos países de Asia, América Latina y África subsahariana, el número anual de nuevas infecciones producidas por el VIH se encuentra en disminución. También ha disminuido la tasa estimada de fallecimientos por el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (SIDA), en parte como resultado del éxito alcanzado en la ampliación del acceso a los medicamentos antirretrovirales en los lugares de recursos limitados. Aún así, estas tendencias favorables no se manifiestan de manera uniforme ni dentro de las regiones ni entre ellas, lo que subraya la necesidad de un avance integral en la puesta en práctica de políticas y programas eficaces (<http://www.unaids.org/>).

A escala mundial, la epidemia de VIH se ha estabilizado, pero los niveles de nuevas infecciones y de fallecimientos por SIDA son inaceptablemente altos (<http://www.unaids.org/>):

- Se estima que en todo el mundo, 33.4 millones [31.1 millones – 35.8 millones] de personas vivían con el VIH en el 2008.
- El número anual de nuevas infecciones por el VIH disminuyó de 3.0 millones [2.6 millones – 3.5 millones] en el 2001 a 2.7 millones [2.4 millones – 3.0 millones] en el 2008.
- En total, 2.0 millones [1.7 millones – 2.4 millones] de personas fallecieron a causa de SIDA en el 2008, mientras que las estimaciones para el 2001 fueron de 1.7 millones [1.5 millones – 2.3 millones].
- Mientras que el porcentaje de personas que viven con el VIH se ha estabilizado a partir del 2000, el número total de personas que viven con el VIH ha ido aumentando de manera uniforme debido a las nuevas infecciones que ocurren cada

año, a los tratamientos que prolongan la vida, y a que las nuevas infecciones aún superan en número a los fallecimientos provocados por SIDA.

- Las mujeres representan la mitad de las personas que viven con el VIH en todo el mundo y más del 60% de las infecciones por el VIH en África subsahariana. Durante los últimos años, la proporción de mujeres entre personas que viven con el VIH ha permanecido estable a nivel mundial, pero ha crecido en muchas regiones.
- Los jóvenes entre 15 y 24 años representan el 45 % estimado de las nuevas infecciones por el VIH en todo el mundo.
- Se estima que en el 2008, 430 000 [240 000 – 610 000] niños menores de 15 años se infectaron con el VIH. A nivel mundial, el número de niños menores de 15 años que viven con el VIH aumentó de 1.6 millones [1.4 millones – 2.1 millones] en 2001 a 2.1 millones [1.2 millones – 2.9 millones] en el 2008 ([ONUSIDA](#)).

En el caso de América Latina, el total estimado de nuevas infecciones por el VIH en 2008 fue de 170 000 [150 000 – 200 000] y el número de personas que viven con el VIH asciende a 2.0 millones [1.8 millones - 2.2 millones]. Según las estimaciones, aproximadamente 77 000 [66 000 – 89 000] personas fallecieron a causa del SIDA durante el 2008 (<http://www.unaids.org/>).

México ocupa el tercer lugar en el continente americano, después de Estados Unidos y Brasil. El primer caso de SIDA en México fue diagnosticado en 1983. Desde esa fecha y hasta el 15 de noviembre del 2007, en el Registro Nacional de Casos de SIDA se han contabilizado en forma acumulada 115 651 casos de SIDA, de las cuales 83% son hombres y 17% son mujeres. Por cada cinco casos acumulados de SIDA en hombres se ha observado un caso en mujeres; y en los casos sexuales esta relación se conserva. Las personas de 15 a 44 años de edad constituyen el grupo más afectado con 78.6% de los casos registrados. El intervalo de edades que comprende de 15 a 44 años acumula 78.6% de los casos, seguido por 19% en personas con 45 y más años; los menores de 0 a 14 años albergan el 2.4% restante. 50% de los casos se concentra en solo cinco entidades federativas: Distrito Federal (20 881), Estado de México (12 183), Veracruz (10 420), Jalisco (9 911) y Puebla (5 676). Se puede mejorar la apreciación del tamaño de la incidencia de los casos históricamente acumulados al construir cifras relativas que

consideran el monto de la población de cada entidad. Las tasas de incidencia acumulada de SIDA muestran al Distrito Federal como la entidad más castigada por la infección con 236.9 casos por cada cien mil habitantes; seguido por Baja California (169.6), Yucatán (153.2), Morelos (150.2), Jalisco (143.2), Veracruz (142.1) y Quintana Roo (132.2). La tasa nacional es de 106.2 casos por cada cien mil habitantes ([Magis RC y Hernández MA](#)).

Las cifras anteriores dan un panorama general de la magnitud del problema, así mismo, plantean la necesidad de nuevas investigaciones que no solo busquen el desarrollo de vacunas y tratamientos sino también la evaluación de la eficiencia y efectividad de los mismos.

Algunos ensayos clínicos nos indican cuales fármacos antirretrovirales deben utilizarse en el tratamiento y cómo tomar en consideración la toxicidad potencial de los medicamentos. Actualmente en muchos casos se evitan los inhibidores de proteasa (IP) debido a los desórdenes clínicos ligados particularmente a estos fármacos. El uso de la terapia combinada tomando un IP una vez al día ha aumentado la adherencia al tratamiento antirretroviral de las personas infectadas con el VIH, y de esta manera se espera contener el desarrollo de la resistencia viral. En este sentido, ahora se reconoce la importancia del tiempo de inicio en la administración de fármacos en las personas con infección crónica.

Actualmente, el estudio del estado latente del virus ha empezado a recibir mayor atención. El interés proviene del descubrimiento de células residuales infectadas por el virus que permanecen en los individuos que reciben terapia anti – VIH altamente eficaz. A pesar de que estos tratamientos anti – VIH pueden evitar que la progenie del virus sea infecciosa (inhibidores de proteasa) o hacer que no pueda replicarse (inhibidores de la transcriptasa inversa). Dichos tratamientos dejan reservorios celulares del virus, los cuales, aun siendo pocos, pueden comenzar el ciclo infeccioso y dar lugar a cepas resistentes. Es por esto que son importantes los estudios de los reservorios celulares.

La modelación matemática puede tener un impacto sustancial en la comprensión de la infección por el VIH. Debido a la dificultad para hacer experimentos en humanos, se carece de información fundamental sobre la dinámica de la infección por el VIH. El modelación matemática de esta dinámica combinada con los experimentos apropiados ha

revelado que el VIH es una enfermedad cambiante en las diferentes escalas de tiempo, que van de horas a días, hasta semanas, meses o años, correspondiendo, estas escalas, a procesos biológicos importantes subyacentes a la infección por VIH. Esto ha ayudado a dilucidar la naturaleza de varios reservorios para el virus, surgiendo así, una discusión seria sobre la posibilidad de que la terapia prolongada con la combinación de fármacos altamente efectivos produzca como efecto final la erradicación del virus.

En este trabajo se plantea como objetivo principal la caracterización teórico - clínica de la dinámica viral temprana en los pacientes infectados por el VIH con ayuda de un modelo matemático multicompartimental, considerando tres compartimentos: las células foliculares dendríticas (FDC), los espacios intersticiales del tejido linfóide (LT) y el plasma sanguíneo (BP). Esta tesis se divide en 5 capítulos. El capítulo 1 ofrece un panorama general de lo que es el sistema inmunitario: sus órganos y células. En el capítulo 2 se hace una revisión sobre la infección del VIH: su estructura e inmunopatología. El capítulo 3 abarca una descripción de los abordajes terapéuticos que se han usado para combatir a la infección por el VIH. En el capítulo 4 se realiza una revisión de los principales modelos matemáticos que se han utilizado para la descripción de la dinámica viral, además se presenta el modelo multicompartimental y se ofrecen algunas predicciones teóricas. El capítulo 5 corresponde a un estudio teórico – clínico de la dinámica viral temprana en pacientes infectados con VIH sometidos a terapia antirretroviral, se muestran resultados concernientes a la estimación de los parámetros considerados como importantes en la dinámica viral utilizando el modelo multicompartimental, se hace la discusión de estos resultados y se establecen las conclusiones del trabajo.

# CAPÍTULO 1

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) infecta a células del sistema inmunitario, principalmente a aquellas que tienen en su superficie la proteína de membrana CD4 (linfocitos T colaboradores y macrófagos). Las células foliculares dendríticas (FDC por sus siglas en inglés Follicular Dendritic Cells) no son infectadas por el virus pero sirven de portadoras de éste. Existen diversos mecanismos de interacción entre los distintos tipos de células y el virus lo que hace importante entender cómo funciona el sistema inmune ante la presencia en el organismo de agentes propios y extraños. En este capítulo se da información general sobre el sistema inmunitario: sus órganos y células. Aparecen datos y conceptos generales ampliamente conocidos. La información aquí plasmada fue tomada, en su mayoría del libro de texto Inmunología de Kuby de TJ Kindt así como del Tratado de Fisiología Médica de Guyton.

## 1. EL SISTEMA INMUNITARIO

El sistema inmunitario está constituido por los órganos generadores de células responsables de proteger al organismo de agentes patógenos como son virus, hongos, bacterias, parásitos o proteínas extrañas, y otros órganos donde se produce la activación e interacción de estas células con los agentes patógenos.

El sistema inmunitario tiene a su cargo dos tipos de inmunidad, a saber:

- 1) La inmunidad innata, incluye a los mecanismos moleculares y celulares que ocurren antes de una infección y cuyo fin es prevenirla o eliminarla. Los mecanismos de reconocimiento de este sistema distinguen de manera precisa entre lo propio y extraño, pero no están especializados para distinguir diferencias pequeñas en las moléculas extrañas. La inmunidad innata consta de las defensas contra la infección que aún antes del ataque de un patógeno están listas para activarse de inmediato. El sistema de inmunidad innata incluye barreras físicas, químicas y moleculares. Las principales barreras físicas son piel y membranas mucosas. Entre las barreras químicas se incluyen la acidez del contenido estomacal y las moléculas solubles especializadas con actividad antimicrobiana. La línea celular de defensa innata

comprende una serie de células (neutrófilos, macrófagos, monocitos, células asesinas naturales y células dendríticas) con receptores sensibles que detectan productos microbianos e instigan un contraataque.

- 2) La inmunidad adaptativa se establece en respuesta a las infecciones y se adapta para reconocer, eliminar y más tarde recordar al patógeno invasor. La inmunidad adaptativa se desarrolla a partir de la innata y comienza pocos días después de la infección inicial. Constituye una segunda línea de defensa contra los agentes patógenos que evaden las reacciones innatas o que persisten a pesar de éstas. Una propiedad importante de la reacción inmunitaria adaptativa es la memoria. Si el mismo agente patógeno u otro estrechamente relacionado infectan al organismo en una segunda ocasión, las células de memoria aportan los medios para que el sistema inmunitario adaptativo monte un ataque rápido y a menudo muy eficaz contra el invasor.

Los sistemas inmunitarios innato y adaptativo funcionan en un sistema altamente interactivo y cooperativo produciendo una respuesta combinada más eficaz de lo que cualquiera de las dos ramas podría producir por sí sola.

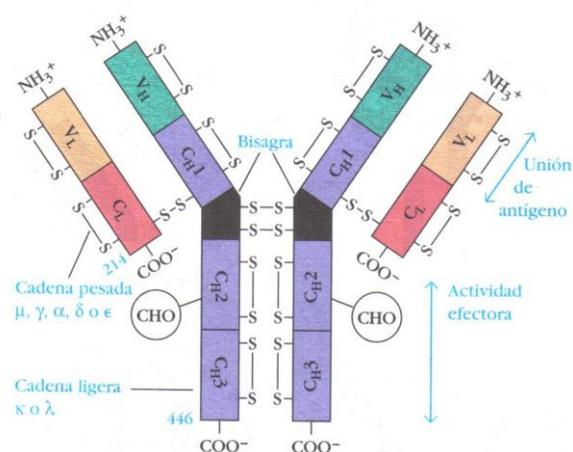
## **1.1. Células del sistema inmunitario**

Una reacción inmunitaria eficaz incluye dos grupos principales de células: linfocitos y células presentadoras de antígeno. Los linfocitos son uno de muchos tipos de glóbulos blancos que se producen en la médula ósea por el proceso de hematopoyesis (o sea, la formación de los glóbulos rojos y los glóbulos blancos). Constituyen del 20 al 40 % de los glóbulos blancos del cuerpo y el 99 % de las células de la linfa. En términos generales, los linfocitos pueden, con base en la función y los componentes de la membrana celular, subdividirse en tres poblaciones principales: células B, células T y células asesinas naturales.

### **1.1.1. Células B**

Las células B o linfocitos B maduran dentro de la médula ósea. Cuando la abandonan, expresan un receptor de unión a antígeno único en su membrana. Este receptor de unión a antígeno o receptor de célula B es una molécula de anticuerpo que está unida a

la membrana. Los anticuerpos son glucoproteínas que constan de dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras también idénticas (figura 1.1.). Cada cadena pesada está unida a una ligera por enlaces disulfuro, y los pares de cadenas pesada y ligera se conservan unidos entre sí mediante enlaces disulfuro adicionales. Los extremos amino terminales de los pares de cadenas pesada y ligera forman una hendidura dentro de la cual se unen antígenos. Cuando una célula B virgen halla por primera vez el antígeno que corresponde a su anticuerpo unido a la membrana celular, la unión del antígeno al anticuerpo hace que la célula se divida con rapidez y su progenie se diferencie en células B de memoria y células B efectoras llamadas células plasmáticas. Éstas últimas producen el anticuerpo en forma que puede secretarse y tienen poco o nada de anticuerpo unido a su membrana.



**Figura 1.1** Diagrama esquemático de la estructura de los anticuerpos (TJ Kindt et al, 2007).

### 1.1.2. Células T

Las células T también se generan en la médula ósea. A diferencia de las células B, que maduran dentro de ésta, las células T migran al timo para madurar. Las células T en maduración expresan en su membrana una molécula de unión a antígeno única, denominada receptor de célula T (TCR, del inglés T – Cell receptor). Existen dos subpoblaciones de células T bien definidas: células T colaboradoras ( $T_H$ ) y células T citotóxicas ( $T_C$ ). Ambos tipos pueden distinguirse entre sí por la presencia de glucoproteínas de membrana CD4 y CD8 en su superficie, respectivamente. La mayoría de los receptores de células T únicamente pueden identificar antígenos unidos a proteínas de

membrana celular llamadas complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, del inglés major hiscompatibility complex). Las moléculas del MHC son glucoproteínas polimórficas que se encuentran en las membranas celulares. Existen dos tipos principales de complejos: MHC clase I, que expresan casi todas las células nucleadas de las especies de vertebrados, y moléculas MHC clase II, que sólo expresan las células presentadoras de antígeno (APC, del inglés antigen – presenting cells). Cuando una célula T virgen encuentra antígeno asociado con una molécula MHC en una célula, prolifera y se diferencia en células T de memoria y células T efectoras.

Una vez que la célula  $T_H$  reconoce un complejo de antígeno y molécula MHC clase II e interactúa con él, se activa: experimenta una transformación metabólica y comienza a secretar diversas citocinas (proteínas de bajo peso molecular secretadas que regulan la intensidad y la duración de la respuesta inmune mediante diversos efectos en los linfocitos y otras células inmunes). Estas citocinas tienen una función importante en la activación de las células B, células  $T_C$ , macrófagos y otros tipos celulares que intervienen en la respuesta inmune. Los linfocitos T citotóxicos tienen una función vital en la vigilancia de las células del cuerpo y la eliminación de cualquiera que exhiba antígeno, como las células infectadas por virus, las células tumorales y las células de un injerto de tejido extraño.

### **1.1.3. Células asesinas naturales**

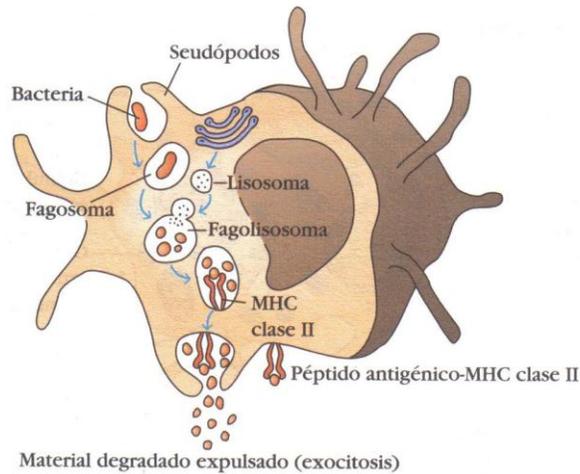
Las células asesinas naturales (células NK del inglés natural killer cell) poseen actividad citotóxica contra una amplia gama de células tumorales y contra células infectadas por determinado virus. Forman parte del sistema inmunitario innato.

### **1.1.4. Fagocitos mononucleares**

El sistema fagocítico mononuclear comprende monocitos que circulan en la sangre y macrófagos que están diseminados en los tejidos. Los monocitos circulan en el torrente sanguíneo por alrededor de ocho horas, durante las cuales crecen; a continuación, migran hacia los diversos tejidos y se diferencian en macrófagos específicos de tejido. Los macrófagos se dispersan en la totalidad del cuerpo. Algunos residen en tejidos particulares y se constituyen en macrófagos fijos en tanto que otros permanecen móviles y se llaman macrófagos libres o errantes. Las células parecidas a macrófagos tienen diferentes funciones en distintos tejidos y se denominan conforme a su localización tisular como:

- Macrófagos intestinales en los intestinos
- Macrófagos alveolares en el pulmón
- Histiocitos en los tejidos conectivos
- Células de Kupffer en el hígado
- Células mesangiales en el riñón
- Células microgliales en el cerebro
- Osteoclastos en el hueso

Los macrófagos son capaces de ingerir y digerir antígenos exógenos, como microorganismos completos y partículas insolubles, y material endógeno, como células hospedadoras lesionadas o muertas, desechos celulares y factores de la coagulación activados. La adhesión del antígeno (cualquier sustancia que se une de manera específica con un anticuerpo o con un receptor en la célula T) a la membrana celular del macrófago da inicio a la fagocitosis. Los antígenos complejos, como células bacterianas completas o partículas víricas, tienden a adherirse bien a la membrana y se fagocitan con facilidad; las proteínas aisladas y las bacterias encapsuladas se adhieren mal y se fagocitan con menor facilidad. La adhesión induce la generación de salientes de la membrana, llamadas pseudópodos, envolviendo el material adherido. La fusión de los pseudópodos deja al material extraño encerrado dentro de una estructura limitada por una membrana conocida como fagosoma, que a continuación ingresa a la vía endocítica de procesamiento (figura 1.2.). En esta vía, un fagosoma se mueve hacia el interior de la célula, en donde se fusiona con un lisosoma para formar un fagolisosoma. Los lisosomas contienen una variedad de enzimas hidrolíticas que digieren el material fagocitado mediante la degradación del antígeno. Después se elimina la mayoría del contenido digerido del fagolisosoma mediante un proceso llamado exocitosis (figura 1.2.). Aunque se degrada y elimina la mayor parte del antígeno ingerido por macrófagos algunos productos peptídicos pueden interactuar con moléculas MHC II y formar complejos que se mueven hacia la superficie celular, en donde se presentan a células T<sub>H</sub>.



**Figura 1.2.** Fagocitosis y procesamiento de antígeno exógeno por macrófagos (TJ Kindt et al, 2007).

### 1.1.5. Células dendríticas

Las células dendríticas (DC, del inglés dendritic cell) están cubiertas por largas extensiones membranosas que asemejan a las dendritas de las células nerviosas. Existen muchos tipos de estas células, y se reconocen al menos cuatro categorías principales: de Langerhans, intersticiales, derivadas de monocitos y derivadas de plasmacitoides. Las DC de Langerhans se encuentran en las capas epidérmicas de la piel, y las intersticiales están presentes en los espacios intersticiales de todos los órganos exceptuando al encéfalo. Las DC de la tercera categoría surgen de las células plasmacitoides. Participan en la defensa inmunitaria innata y como células presentadoras de antígeno.

Las células dendríticas existen en muchas formas y realizan las funciones de captura de antígeno en un sitio del organismo y presentación de antígeno en otro. Fuera de los ganglios linfáticos, las formas inmaduras de estas células vigilan al organismo en busca de signos de invasión por patógenos y capturan antígenos intrusos o externos. Cuando actúan como centinelas en la periferia, las células dendríticas inmaduras toman a su cargo el antígeno de tres maneras. O bien lo engullen por fagocitosis, lo internalizan mediante endocitosis mediada por receptor, o lo inhiben por pinocitosis (una modalidad de endocitosis).

Las células foliculares dendríticas (FDCs por sus siglas en inglés Follicular Dendritic Cells) a diferencia de las DCs no se originan en la médula ósea y tienen

funciones distintas a éstas. Las FDCs no expresan MHC clase II. Por lo tanto, no funcionan como células presentadoras de antígeno para la activación de los linfocitos T<sub>H</sub>. Aunque no expresan MHC clase II, las células foliculares dendríticas sí expresan concentraciones elevadas de los receptores de membrana para anticuerpo, lo que permite la formación eficiente de los complejos de antígeno y anticuerpo. Este tipo de células se encuentra en los centros germinales de todos los tejidos linfoides secundarios, donde atrapan y retienen antígenos en la forma de complejos inmunes (ICs).

## **1.2. Órganos del sistema inmunitario**

Existen varios órganos que forman parte de las respuestas inmunitarias y pueden dividirse en órganos linfoides primarios y secundarios. Los órganos linfoides primarios proporcionan microambientes apropiados para el desarrollo y la maduración de los linfocitos. Los órganos linfoides secundarios atrapan al antígeno, por lo general procedente de los tejidos próximos o de los espacios vasculares, y son sitios en que los linfocitos maduros pueden interactuar de manera eficaz con esos antígenos.

## **1.3. Órganos linfoides primarios**

### **1.3.1. Timo**

El timo es el sitio de desarrollo y maduración de las células T. Es un órgano bilobulado plano situado arriba del corazón. La función del timo es crear y seleccionar un repertorio de células T que protegerán al cuerpo de infecciones. El timo induce la muerte de las células T que son incapaces de reconocer complejos de antígeno y MHC y aquellas que reaccionan con el antígeno propio y MHC con potencia suficiente para representar el peligro de causar una enfermedad autoinmune. Más de 95% de los timocitos muere por apoptosis en el timo sin alcanzar nunca la madurez.

### **1.3.2. Médula ósea**

La médula ósea es el tejido donde se originan los linajes linfoides (células B y células T), particularmente es el sitio de origen y maduración de las células B.

### **1.3.3. Sistema linfático**

Conforme circula la sangre bajo presión, su componente líquido (plasma) escapa a través de la pared delgada de los capilares hacia el tejido circundante. Este líquido, llamado líquido intersticial, permea todos los tejidos y baña a todas las células. Gran parte del líquido vuelve a la sangre a través de las paredes de las vénulas. El resto del líquido intersticial ingresa en una delicada red de tubos de pared delgada llamados vasos linfáticos primarios. Dentro de estos vasos el líquido, ahora llamado linfa, fluye de la red de tubos diminutos a una serie de vasos colectores cada vez más grandes llamados vasos linfáticos.

Cuando un antígeno extraño penetra en los tejidos, el sistema linfático lo atrapa y lo desplaza hacia varios tejidos linfoides organizados, como los ganglios linfáticos, que atrapan el antígeno extraño. El sistema linfático también sirve como un medio para transportar a los linfocitos y al antígeno de los tejidos conectivos a tejidos linfoides organizados, donde los linfocitos pueden interactuar con el antígeno atrapado y activarse.

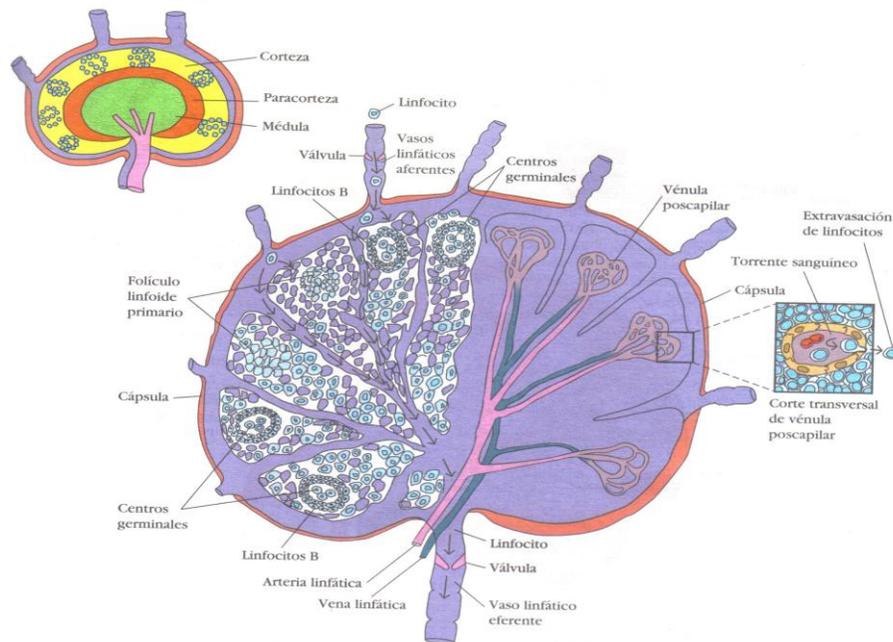
## **1.4. Órganos linfoides secundarios**

### **1.4.1. Ganglios linfáticos**

Los ganglios linfáticos son los sitios en que se activan las reacciones inmunes a antígenos en la linfa. Son estructuras encapsuladas con forma de habichuela que contienen una configuración reticular empacada con linfocitos, macrófagos y células dendríticas. Los ganglios linfáticos son la primera estructura linfoide organizada que encuentran los antígenos al penetrar en los espacios tisulares. A medida que se filtra la linfa a través de un ganglio, cualquier antígeno particulado que se encuentre en ella queda atrapado por la red celular de células fagocíticas y dendríticas. La estructura total de un ganglio linfático confiere soporte a un microambiente ideal para que los linfocitos se encuentren y reaccionen de manera eficaz a los antígenos atrapados.

Desde el punto de vista morfológico, un ganglio linfático puede dividirse en tres regiones más o menos concéntricas: corteza, paracorteza y médula, cada una de las cuales da soporte a un microambiente distinto (figura 1.3.). La capa más externa, la corteza, contiene linfocitos (sobre todo células B), macrófagos y células foliculares dendríticas dispuestas en folículos primarios. Después de un contacto antigénico, los folículos

primarios crecen para formar folículos secundarios y cada uno contiene un centro germinal. Debajo de la corteza yace la paracorteza, que está poblada en gran parte por linfocitos T y contiene asimismo células dendríticas que al parecer migraron de los tejidos al ganglio. Estas células dendríticas expresan concentraciones elevadas de moléculas MHC clase II, que son necesarias para presentar antígeno a las células T<sub>H</sub>. La médula está menos densamente poblada de células de linaje linfoide, y de las presentes, muchas son células plasmáticas que secretan de forma activa moléculas de anticuerpo.



**Figura 1.3.** Estructura de un ganglio linfático (TJ Kindt et al, 2007).

#### 1.4.2. Bazo

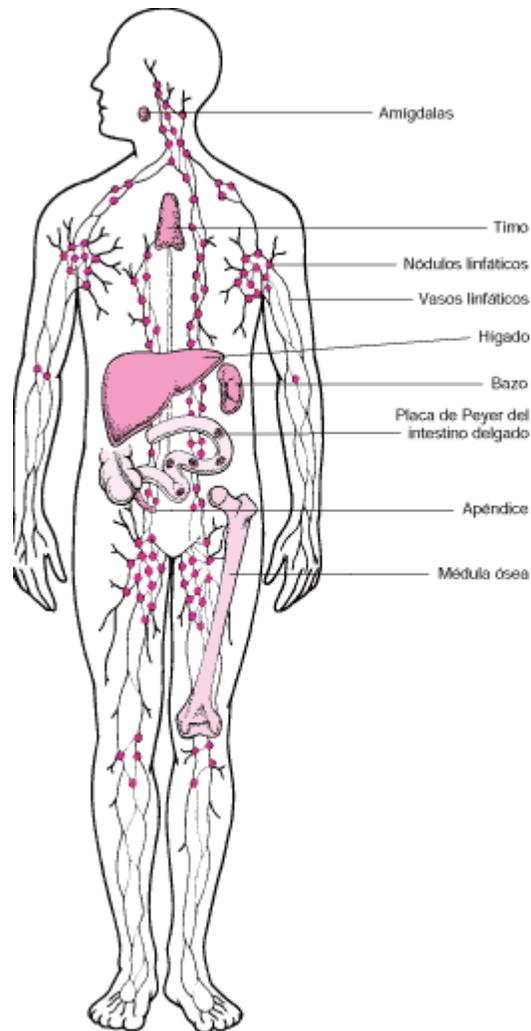
El bazo, situado en la parte alta del lado izquierdo de la cavidad abdominal, es un órgano linfoide secundario, ovoide y grande, que tiene un papel principal en el desarrollo de reacciones inmunes a antígenos en el torrente sanguíneo. El bazo tiene la función particular de filtrar la sangre y atrapar antígenos de origen sanguíneo; por consiguiente, puede reaccionar a infecciones sistémicas.

#### 1.4.3. Tejido linfoide relacionado con mucosas

Las mucosas que recubren a los sistemas digestivo, respiratorio y urogenital tienen un área de superficie combinada de unos 400 m<sup>2</sup> (casi el tamaño de una cancha de basquetbol) y son los principales sitios de entrada de la mayor parte de los agentes

patógenos. Estas membranas están defendidas por un grupo de tejidos linfoides organizados que se conocen en conjunto como tejido linfoide relacionado con mucosas (MALT mucosa-associated lymphoid tissue). El tejido linfoide secundario relacionado con el epitelio respiratorio se denomina tejido linfoide bronquial (BALT bronchial associated lymphoid tissue), y el vinculado con el epitelio del tubo digestivo se llama de manera colectiva tejido linfoide intestinal (GALT gut-associated lymphoid tissue). Desde el punto de vista estructural, el MALT puede conformar desde grupos laxos, apenas organizados, de células linfoides en la lámina propia de vellosidades intestinales, hasta estructuras bien organizadas de células, como las placas de Peyer, que se encuentran dentro del recubrimiento intestinal. El MALT también incluye a las amígdalas y al apéndice. Su importancia funcional en las defensas del cuerpo se comprueba por la considerable población de células plasmáticas que producen anticuerpo, cuyo número excede con mucho a la de las células plasmáticas en el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea combinados.

Las células epiteliales de las mucosas desempeñan una función relevante en la promoción de la respuesta inmune, al llevar muestras pequeñas de antígeno extraño desde la luz de las vías respiratorias, digestivas y urogenitales hasta el tejido linfoide relacionado con la mucosa subyacente. Este transporte de antígeno lo realizan las células M especializadas, las cuales tienen una invaginación profunda o bolsa en la membrana plasmática basolateral. Esta bolsa está llena con un grupo de células B, T y macrófagos. Los antígenos de la luz intestinal se desplazan por endocitosis hacia el interior de vesículas que son transportadas desde la membrana luminal (que limita la luz intestinal) hacia la membrana de la bolsa subyacente. A continuación las vesículas se fusionan con la membrana de la bolsa y llevan a los antígenos a los grupos de linfocitos y células presentadoras de antígeno contenidos dentro de la bolsa, siendo los más importantes las células dendríticas.



**Figura 1.4.** Sistema linfático humano  
(<http://www.todocancer.com>).

#### **1.4.4. Tejido linfático cutáneo**

La piel es una barrera anatómica importante contra el ambiente externo. Constituye el órgano más grande del cuerpo, y tiene un papel decisivo en las defensas inespecíficas innatas. La capa epidérmica (externa) de la piel consta en su mayoría de células epiteliales especializadas llamadas queratinocitos. Estas células secretan diversas citocinas que pueden actuar para inducir una reacción inflamatoria local.

## CAPÍTULO 2

Estructuralmente, el VIH está formado por diversas proteínas que le permiten efectuar su ciclo biológico dentro de la célula hospedadora, desde la etapa de fusión con el hospedador hasta su integración al genoma celular. Una vez que el virus se aloja en el organismo se inician una serie de etapas infecciosas pasando por una infección aguda caracterizada por un descenso abrupto de los linfocitos CD4, seguida de una fase crónica en la que se establece un estado de latencia clínica para finalmente desencadenar en un estadio de SIDA en el que aparecen una serie de enfermedades oportunistas como consecuencia de la destrucción progresiva del sistema inmune principalmente de los linfocitos CD4. En este capítulo se pretende dar una visión detallada de la estructura del VIH, su ciclo biológico y sus etapas de infección *in vivo* con la finalidad de lograr el entendimiento y comprensión de los procesos o mecanismos involucrados en la interacción entre el organismo hospedador y el virus.

### 2. LA INFECCIÓN DEL VIH/ SIDA

En los últimos años todas las formas de inmunodeficiencia han quedado opacadas por una forma epidémica de inmunodeficiencia grave causada por el agente patógeno llamado virus de inmunodeficiencia humana tipo 1, o VIH – 1. La enfermedad que produce este virus, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se informó en Estados Unidos por primera vez en 1981 en las ciudades de Los Ángeles, Nueva York y San Francisco. Los pacientes de cierto grupo evidenciaron infecciones poco comunes, entre ellas la causada por el hongo patógeno oportunista *Pneumocystis carinii* que produce una neumonía que se conoce como PCP (del inglés *P. carinii pneumonia*) en personas inmunodeficientes. Además de la PCP, algunos sujetos padecieron sarcoma de Kaposi, un tipo de cáncer muy raro, y otras infecciones por microorganismos oportunistas observadas también rara vez. La valoración más completa de estos individuos puso de manifiesto que tenían en común una deficiencia notable en las reacciones inmunes celulares y una disminución notoria de la subpoblación de células T portadoras del marcador CD4 (células T colaboradoras). Cuando los epidemiólogos examinaron los antecedentes de los primeros

pacientes que sufrían este nuevo síndrome, encontraron que, en su mayoría, eran varones homosexuales. A medida que aumentaba el número de casos de SIDA y se reconocía la enfermedad en todo el mundo, las personas que se encontraban en alto riesgo de contraerla eran varones homosexuales, individuos heterosexuales promiscuos de cualquiera de los sexos, sus parejas, consumidores de sustancias ilícitas por vía intravenosa, personas que habían recibido sangre o sus productos antes de 1985 y lactantes nacidos de madres infectadas por el VIH. Actualmente, la epidemia del VIH se ha propagado a todo el mundo. En algunos países en vías de desarrollo se ha convertido en un verdadero problema de salud pública y en un reto que vencer dadas las condiciones educativas, económicas y sociales prevalecientes. Por tanto es de suma importancia encontrar terapias efectivas y baratas accesibles a las comunidades que no cuentan con servicios médicos adecuados, o desarrollar métodos para optimizar las terapias actuales ([Kindt TJ et al, 2007](#)).

El VIH entra al organismo por vía sexual infectando a las células dendríticas (DC) del sistema inmune, las cuales se encuentran en gran cantidad en todas las mucosas. Subsecuentemente, el virus puede infectar a los leucocitos que, lo transportan a otras regiones del organismo. Se sabe que infecta particularmente macrófagos y linfocitos CD4. El proceso de infección consiste en el anclaje del virus en dichas células y la posterior inyección de su material genético en forma de ácido ribonucleico (ARN). Mediante la acción de la enzima retrotranscriptasa proveniente del virus, el ARN viral se transforma en ácido desoxirribonucleico (ADN) y pasa a formar parte de los genes de la célula misma. Al activarse la célula T CD4 para desarrollar una respuesta inmune, ocurre la transcripción de su información genética en largas cadenas peptídicas que, mediante la intervención de la proteasa (una proteína viral) dan lugar a las proteínas que conformarán los nuevos virus. Como parte del mecanismo reproductivo del virus, éstos toman parte de la membrana celular para formar su propia membrana y salen de la célula donde podrán iniciar un nuevo ciclo infeccioso. Este proceso origina durante las primeras semanas posteriores a la infección una gran cantidad de virus en el torrente sanguíneo; y el descenso rápido de la cantidad de linfocitos T CD4 desde 1000 células por  $\text{mm}^3$  a 500 células por  $\text{mm}^3$ . Esto hizo suponer inicialmente que el VIH disminuía los niveles de células T CD4 simplemente infectándolas y aniquilándolas. Sin embargo este fenómeno de descenso de células T CD4 resultó tener orígenes más complejos ([Haase AT, 1999](#)).

A los pocos días de que ocurre la infección, aparece una gran cantidad de VIH en los ganglios linfáticos, así como en el tejido linfoide intestinal, provocando una respuesta inmunológica muy intensa para tratar de eliminar al invasor. Aparece una serie de síntomas comunes a otras enfermedades virales, tales como fiebre, malestar general e hinchazón de los ganglios linfáticos. Transcurridas de cuatro a seis semanas, los síntomas desaparecen y la actividad inmunológica decrece fuertemente con respecto a los niveles alcanzados durante estas semanas. La cantidad de virus en el plasma sanguíneo disminuye a niveles difícilmente detectables, mientras que el número de linfocitos T CD4 se incrementa hasta 600 por mm<sup>3</sup> aproximadamente, pero no vuelve a ser tan alto como era antes de la infección. En tanto, en los tejidos linfáticos disminuye la cantidad de virus. Sin embargo, el virus no desaparece y se instala de forma crónica y masiva en dichos tejidos, que se convierten en un reservorio permanente del VIH. A partir de este momento, se inicia un largo período de latencia de la enfermedad, esencialmente asintomático y durante el cual, paradójicamente, día con día se producen y aniquilan unos mil millones de partículas virales. El período de latencia de la infección, dura alrededor de 10 años, siendo típicamente más largo en los jóvenes que en los adultos y dependiendo de manera crucial de los factores genéticos así como del estado de salud y de nutrición del individuo (Haase AT, 1999).

### **2.1. Inmunopatología de la infección por el VIH**

Para analizar la inmunopatología del SIDA es necesario considerar tres aspectos:

1. Los mecanismos mediante los cuales el VIH se adapta y destruye su célula diana.
2. La respuesta del sistema inmunitario que intenta neutralizar la infección por el VIH.
3. Los mecanismos de escape que permiten al VIH eludir esta respuesta inmunitaria.

El ciclo biológico del VIH, donde intervienen los mecanismos de fusión, transcripción inversa e integración del virus en la célula hospedadora (linfocitos T o macrófagos), suele llevarse a cabo mediante la intervención de proteínas virales fundamentales en cada una de las etapas. El organismo mediante diversos procesos que abarcan tanto a la inmunidad innata como a la adaptativa se defiende del ataque del virus manteniéndolo en un estado latente. Sin embargo, los mecanismos de escape viral permiten al VIH eludir la respuesta inmunitaria del organismo de tal manera que pasa de un estado de latencia prolongado a uno caracterizado por un conjunto de enfermedades oportunistas

denominado SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida).

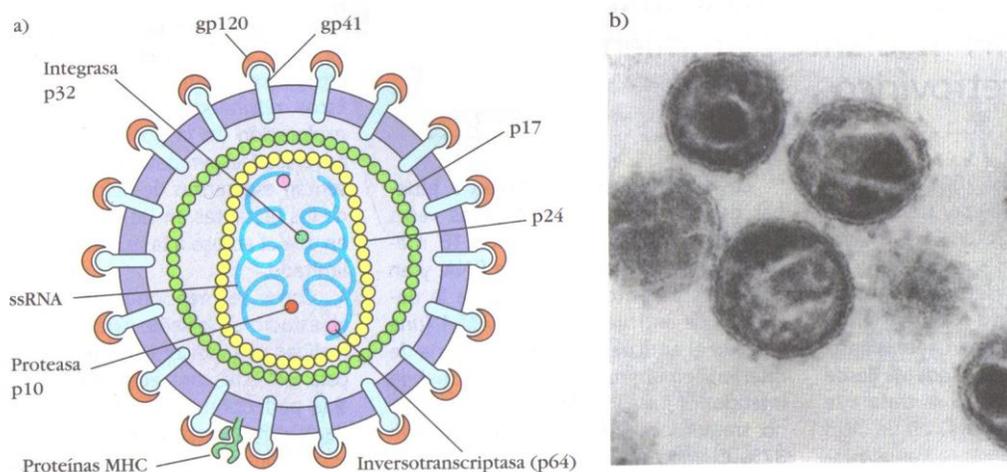
### 2.1.1. Estructura del VIH

Visto por microscopía electrónica, el VIH – 1 tiene las características de un lentivirus, con una parte central cónica compuesta de la proteína de la cápside Gag p24 viral (figura 2.1.). Por convención, la proteína viral (p) se señala con un número que corresponde al tamaño (masa atómica) de la proteína (x1000). El virión mide entre 100 y 120 nm de diámetro aproximadamente, y presenta formas morfológicas heterogéneas (Kuznetsov et al, 2003). Los virus infecciosos contienen la envoltura y tres proteínas estructurales de Gag: la matriz (p17), la cápside (p24) y la nucleocápside (NC, p7) (Gómez C y Hope TJ, 2005). La matriz forma el cascarón interno en la partícula, justo debajo de la membrana viral. La cápside forma el centro cónico que incluye el ARN genómico viral, y la nucleocápside interactúa con el ARN viral dentro de la cápside. Estas proteínas virales son generadas por la proteasa viral (PR) al procesar la poliproteína precursora del VIH – 1: p55 Gag. La localización de las proteínas Gag en el precursor p55 es la siguiente: p17/p24/p2/p7/p1/p6. Gag p55, en su forma no escindida, tiene tres dominios: el que apunta a la membrana (M), de interacción (I) y tardío (L) (Gómez C y Hope TJ, 2005). El dominio M, situado dentro de la región de la matriz, apunta a la proteína de Gag hacia la membrana plasmática. El dominio I es responsable de la acción entre los monómeros de Gag y se encuentra dentro de la nucleocápside. El dominio L, también dentro de la nucleocápside, media la gemación retroviral, que involucra a la región p6 de la poliproteína de Gag (Freed EO, 2002).

Dentro del nucleoide o cápside de Gag están dos filamentos, generalmente idénticos, de ARN. A éstos se une la polimerasa de ADN viral dependiente de ARN, Pol, llamada también transcriptasa inversa (RT, p66, p51), y las proteínas de la nucleocápside (p9 y p6).

Las proteínas Vif y Nef se relacionan muy cerca con el centro del virus (Camaur D y Trono D, 1996, Liu H et al, 1995, Pandori MW, 1996). El producto accesorio viral Vpr también se encuentra dentro del virión, y usualmente fuera del centro (Lu YL et al, 1993, Yu X et al, 1993). La presencia de todas estas proteínas virales dentro de las partículas del virión sugiere que desempeñan un papel durante los acontecimientos tempranos de la

infección por VIH. Las proteínas de la envoltura se derivan de una glucoproteína precursora de 160 kDa, gp160, que se escinde dentro de la célula (muy probablemente por la acción de enzimas celulares en el aparato de Golgi) formando una proteína superficial externa de la envoltura, gp120 y una proteína transmembranal, gp41 (McCune JM et al, 1988). Estas proteínas se transportan a la superficie de la célula, donde las porciones central y amino terminal de gp41 se expresan en el exterior del virión. El segmento del asa de gp41 es importante para la fusión de la membrana del virus con la membrana celular (Pascual RM et al, 2005). La región central de esta proteína transmembranal se une a gp120 viral externa de manera no covalente, sobre todo en dos regiones hidrofóbicas en las terminales amino y carboxilo de gp120 (Helseth E et al, 1991). La proteína gp120 del virión se localiza en la superficie del virus y contiene los sitios para el acoplamiento de los receptores celulares y los principales dominios de anticuerpos neutralizantes (Chang TC et al, 1986). Tat es una proteína importante implicada en la regulación positiva de la replicación del VIH (Greene WC y Peterlin BM, 2002, Peterlin BM, 1995). Rev es otra proteína reguladora viral que participa en las etapas de procesamiento y transporte del ARN mensajero del VIH al citosol.



**Figura 2.1.** Estructura del VIH. a) Proteínas estructurales del virion (para más detalle véase el texto) b) Micrografía electrónica de viriones de VIH (TJ Kindt et al, 2007).

La proteína viral Nef parece tener una variedad de posibles funciones, incluidas la activación de la célula y el aumento de la infectividad. Interactúa con proteínas celulares para estimular la transducción de señales y la activación celular (Sawai ET et al, 1996). Por su parte, las proteínas Vif, Vpr, y Vpu afectan el ensamblaje del virus, su ciclo celular, gemación e infectividad durante la producción de virus infecciosos (Greene WC y Peterlin

BM, 2002, Peterlin BM, 1995). La polimerasa del ADN que depende del ARN actúa en los primeros pasos de la replicación del virus para formar una copia de ADN de cadena doble (ADNc) del ARN viral. La integrasa actúa dentro del núcleo de la célula incorporando el ADNc viral en el ADN cromosómico del hospedero. A través del procesamiento de las poliproteínas de Gag y de Gag – Pol dentro del virión gemado, la proteasa induce la maduración de la partícula viral en un virus infeccioso (Greene WC y Peterlin BM, 2002. Peterlin BM, 1995).

<b>Tabla 2.1.</b> Proteínas del VIH y sus funciones (Levy JA, 2008)		
Proteínas	Nomenclatura y tamaño (kDa)	Función
Gag	p24	Cápside (CA) proteína estructural
	p17	Proteína de la matriz (MA), miristilada
	p7	Proteína de la nucleocápside (NC); ayuda a la transcripción inversa
	p6	Papel en la gemación (dominio L)
Polimerasa (Pol)	P66, p51	Transcriptasa inversa (RT)
Proteasa (PR)	p10	Procesamiento postraduccional de proteínas virales
Integrasa (IN)	p32	Integración del ADNc viral
Envoltura (Env)	gp120	Superficie de la proteína de la envoltura
	gp41	Proteína transmembranal de la envoltura
Tat	p14	Transactivación
Rev	p19	Regulación de la expresión del ARNm viral
Nef	p27	Pleiotrópico, puede incrementar o disminuir la replicación viral
Vif	p23	Incrementa la infectividad del virus y transmisión de célula a célula, ayuda en la síntesis de ADN proviral y/o en el ensamblaje del virion
Vpr	p15	Ayuda en la replicación del virus, transactivación
Vpu	p16	Ayuda en la liberación del virus, interrumpe los complejos gp160:CD4
Tev	p26	Actividades Tat/Rev

### 2.1.2. Ciclo biológico del VIH

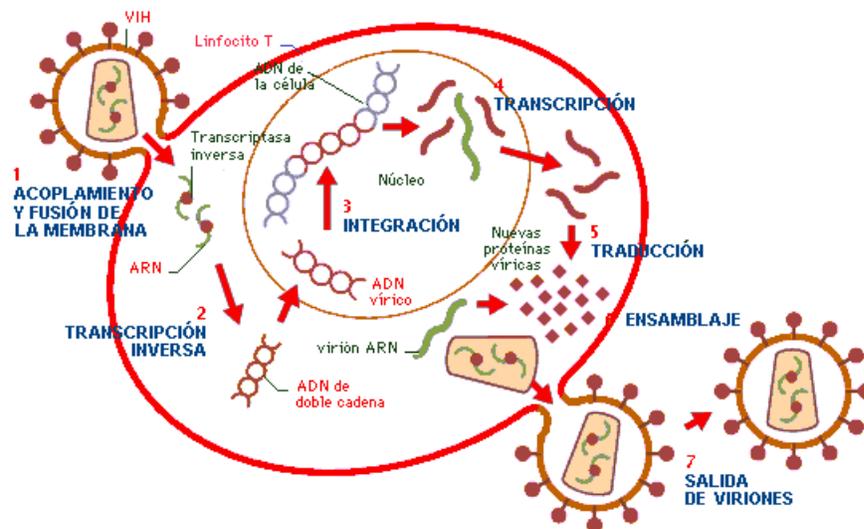
El primer paso en el ciclo biológico del VIH es la entrada del virus en la célula del organismo principalmente linfocitos CD4 (Greene WC y Peterlin BM, 2002), representa un proceso secuencial que se produce mediante la interacción del virus con distintas moléculas ubicadas en la membrana celular. En la superficie de las células dendríticas existen determinadas lectinas, como DC – SIGN y L – SIGN a las que se adhieren con alta afinidad los numerosos virus, entre los que se encuentra el VIH (Van Kooyk Y y Geijtenbeek TB,

2003). Este proceso “atrapa” y concentra los viriones en la membrana plasmática lo que facilita enormemente la propagación viral.

A partir de esta localización en la membrana de las células dendríticas, las partículas virales infectan a los linfocitos CD4 mediante un proceso de varias etapas, en el que interactúan con dos tipos de receptores: un receptor específico y común a todas las variantes del VIH, la molécula de CD4, y dos correceptores (CCR5 y CXCR4) pertenecientes a la familia de las quimiocinas (Berger EA et al, 1999). En función del correceptor con que se interactúa, el VIH se clasifica en tres variantes: R5 (utiliza exclusivamente el correceptor CCR5); X4 (utiliza exclusivamente el correceptor CXCR4), o R5X4 (aquellos virus que pueden entrar en la célula utilizando cualquiera de los dos correceptores). Tras la interacción con CD4, la proteína de la superficie viral gp120 experimenta un cambio estructural que le permite la unión con los correceptores virales CCR5 y/o CXCR4 (Wyatt R.y Sodroski J, 1998). Dicha unión es necesaria para inducir la fusión de la membrana viral con la membrana celular y lleva a la internalización de la cápside viral y su desensamblaje parcial en el citoplasma celular (figura 2.2.). Esto permite la retrotranscripción del genoma viral constituido por dos hebras de ARN monocatenario.

La retrotranscriptasa (RT) o transcriptasa inversa es la enzima viral responsable de la retrotranscripción del genoma viral. Esta polimerasa convierte el ARN monocatenario en ADN bicatenario proviral. Una vez sintetizado, el ADN proviral se acopla a una serie de factores celulares y virales formando el “complejo de preintegración” que es transportado al núcleo, donde tendrá lugar la integración del ADN viral en el genoma de la célula hospedadora. A partir de la integración, el VIH puede seguir un comportamiento variable: permanecer latente, o experimentar su replicación masiva con el consiguiente efecto citopático sobre la célula infectada. La iniciación de la transcripción del genoma viral depende de factores celulares, entre los que destaca la familia de factores de transcripción Rel/NF –  $\kappa\beta$  (Alcamí J et al, 1995). Este factor no existe en forma activa en los linfocitos CD4 en estado de reposo celular. Su producción es inducida únicamente en el curso de los procesos de activación inmune, por lo que la replicación del VIH depende absolutamente de la activación de los linfocitos infectados (Bermejo M et al, 2004). Una vez iniciada la síntesis del ARN viral, la expresión de la proteína viral Tat aumenta la tasa de transcripción del genoma del VIH y, en cooperación con otros factores celulares, permite la elongación

completa del ARN mensajero (ARNm) del virus (Emerman M y Malim MH, 1998). El ARNm del VIH se sintetiza en forma de un único transcrito que debe ser transportado al citosol y procesado en ARN de distintos tamaños. Ambas etapas, procesamiento y transporte, son realizadas fundamentalmente por la proteína viral Rev. Después de su síntesis, las proteínas virales deben ser procesadas antes de ensamblarse para poder formar partículas virales maduras (Von Schwedler UK et al, 2003). En este proceso participan proteasas celulares y la proteasa viral.



**Figura 2.2.** Ciclo biológico del VIH. El ciclo biológico se distingue de tres etapas características a saber: fusión, transcripción inversa e integración (<http://www.ctv.es/USERS/fpardo/virus.htm>).

### 2.1.3. Etapas de la infección por el VIH *in vivo*

#### 2.1.3.1. Etapas tempranas de la infección

En la transmisión por vía sexual las primeras células diana del virus son las células dendríticas y de Langerhans, situadas en la submucosa y los linfocitos circundantes. La migración de células presentadoras y linfocitos infectados, primero a ganglios regionales y posteriormente a órganos linfoides distantes, hace que el virus se disemine a todos los órganos linfoides en una semana (Haase AT, 1999). En este momento el número de linfocitos infectados es similar al observado en la fase crónica de la infección.

#### 2.1.3.2. Fase crónica de la infección

Los órganos linfoides representan el gran reservorio donde se producen los fenómenos de infección y propagación del VIH. En el estudio de los ganglios linfáticos se

observa una enorme cantidad de viriones extracelulares que se disponen principalmente en los espacios interdigerentes de las células dendríticas, en estrecho contacto con los linfocitos (Haase AT et al, 1996). Esta acumulación de viriones en la membrana se debe a la interacción con la lectina DC – SIGN que potencia la infectividad del VIH. A proporción muy baja de linfocitos infectados (inferior al 1%) el VIH se replica activamente, mientras que la mayoría de linfocitos alberga un genoma proviral latente. Se cree que la población de linfocitos CD4 activados es la responsable de la ingente producción de viriones observada en los pacientes infectados y que representa la población destruida por efecto citopático directo, misma que tiene una vida media menor a 24 hr (Perelson AS et al, 1996). La progenie viral producida infecta a su vez linfocitos activados, especialmente aquellos que se encuentran en fase de división para “regenerar” los linfocitos destruidos o los linfocitos CD4 específicos del VIH activados tras reconocer los antígenos virales, lo que les hace más susceptibles a la infección viral (Douek DC et al, 2002). La población latente representa el reservorio de la infección viral en los linfocitos CD4 y es inaccesible a la respuesta inmunitaria al no expresar productos virales en su membrana.

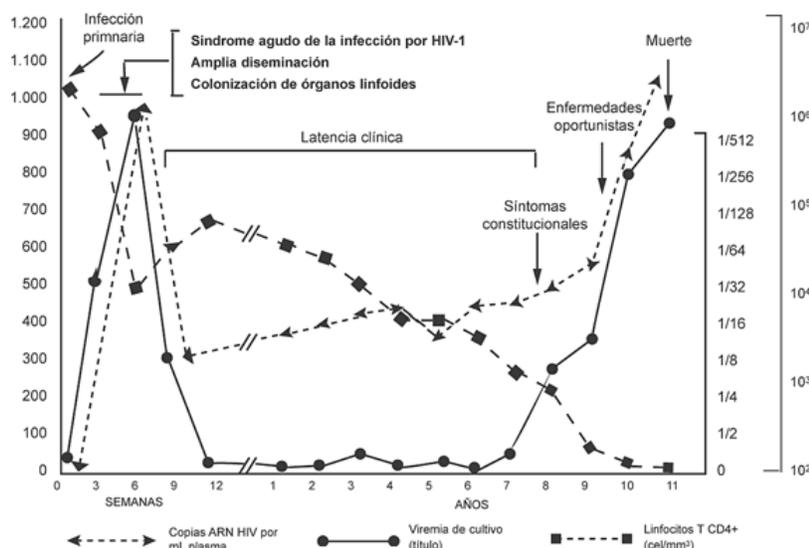


Figura 2.3. Curso de la infección por VIH – 1 (www.scielo.org.ar)

### 2.1.3.3. Estadio de SIDA

A medida que la infección progresa, la destrucción del sistema inmunitario tiene como consecuencia un aumento en la replicación viral. Esta replicación acelerada permite una mayor generación de mutantes, con lo cual aumenta la posibilidad de evasión viral y de aparición de variantes más citopáticas. La elevación de la carga viral y el rápido descenso

en la cifra de linfocitos CD4 son los marcadores de la replicación “salvaje” del virus en ausencia de los mecanismos de control inmunológico (Alcamí J, 2004).

#### **2.1.4. Mecanismos de linfocitopenia CD4**

La destrucción de los linfocitos CD4 representa el evento más característico de la infección por el VIH. Dada la agresiva cinética de la replicación viral, se postuló inicialmente que la destrucción de los linfocitos CD4 era una consecuencia directa de la replicación viral y del consiguiente efecto citopático en la célula infectada (Ho DD et al, 1995). Sin embargo, otros mecanismos de destrucción indirecta o de bloqueo linfocitario ocasionan la inmunosupresión, la destrucción linfocitaria por efecto citopático directo no explica todos los fenómenos de desregulación inmunitaria que se observan en el SIDA (véase secciones subsecuentes) (Alcamí J, 2004).

##### **2.1.4.1. Destrucción de CD4 por efecto citopático**

Los modelos matemáticos desarrollados con base en la observación de las modificaciones en los niveles de carga viral y de los linfocitos CD4 a consecuencia del tratamiento con fármacos de gran eficacia antirretroviral estiman que alrededor de  $10^8$  linfocitos CD4 se destruyen diariamente por efecto citopático directo del VIH (Perelson AS et al, 1996). Sin embargo, algunos autores han demostrado que la acumulación de virus en los ganglios genera un fenómeno de atrapamiento de los linfocitos en los órganos linfoides en torno a las células dendríticas recubiertas de viriones (Haase AT et al, 1996). El fenómeno de aumento de CD4 que se produce en las primeras semanas tras el inicio de tratamiento antirretroviral manifiesta de hecho una redistribución de los linfocitos y no un aumento neto de éstos (Pakker NG et al, 1998). Por lo tanto, los datos actuales apuntan a que la linfocitopenia CD4 no es únicamente consecuencia de la destrucción linfocitaria por efecto citopático directo, producto de la replicación del VIH y, sugieren que otros mecanismos de destrucción indirecta o de bloqueo de la proliferación linfocitaria están involucrados en la grave inmunosupresión que se produce en el curso de la infección (Alcamí J, 2004).

##### **2.1.4.2. Destrucción mediante mecanismos inmunitarios**

Los linfocitos CD4 infectados se transforman en dianas del sistema inmunitario y al

expresar péptidos virales en sus moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC - I) son susceptibles de reconocimiento y destrucción por linfocitos citotóxicos (McMichael AJ et al, 2001). En los modelos experimentales se ha demostrado que la infusión de linfocitos CD8 activados por el VIH origina una disminución en el número de linfocitos CD4 infectados (Brodie SJ et al. 1999).

#### **2.1.4.3. Destrucción secundaria a la acción de proteínas tóxicas del virus**

Numerosos datos experimentales apoyan la hipótesis de que el VIH puede inducir apoptosis tanto en los linfocitos infectados como en los no infectados a través de múltiples mecanismos: activación crónica, interacción entre los receptores y la envoltura viral, efecto tóxico de proteínas virales, aumento en la expresión de ligandos citotóxicos y síntesis de citocinas por linfocitos y macrófagos (Gil J et al, 2004).

La proteína gp120 representa probablemente el factor proapoptótico más importante del VIH. Se ha demostrado que tanto el contacto de las partículas virales como el de la proteína gp120 con los receptores de los linfocitos CD4 no infectados inducen apoptosis al activar una serie de rutas metabólicas, que a su vez inducen las vías extrínseca e intrínseca de la apoptosis (Cloyd MW et al, 2001, Ferry KF et al, 2000). Además de la gp120, se ha descrito que tres proteínas reguladoras, Tat, Vpr y Nef tienen un efecto proapoptótico por distintos mecanismos.

#### **2.1.4.4. Bloqueo en la regeneración linfocitaria**

Cuando se inicia la reconstitución inmunológica después de administrar el tratamiento antirretroviral, se observa un aumento en la cinética de división linfocitaria en la subpoblación CD4 respecto a los sujetos infectados sin tratamiento y a los pacientes seronegativos. Este hecho demuestra que durante la fase crónica de la infección el VIH bloquea la activación y proliferación de los linfocitos CD4 (McCune JM, 2001). Únicamente con la disminución de la carga viral plasmática a niveles indetectables el sistema es capaz de entrar en ciclo de mitosis a una mayor velocidad. Este bloqueo puede producirse tanto a nivel central (timo o médula ósea) como periférico (órganos linfoides) (Fry TJ y Mackall CL, 2001).

#### **2.1.4.5. Alteraciones en la redistribución linfocitaria**

La acumulación de las partículas virales en los órganos linfoides, especialmente los ganglios linfáticos, produce un reclutamiento de los linfocitos en estas zonas. Por tanto, la linfocitopenia CD4 no es únicamente debida a fenómenos de destrucción linfocitaria sino también a un secuestro de linfocitos en los órganos linfoides (McCune JM, 2001).

#### **2.1.4.6. Hiperactivación y agotamiento del sistema inmunitario**

Según esta hipótesis, la intensa replicación viral induciría un estado de sobrecarga antigénica y activación continua del sistema inmune, que conllevaría un aumento en el número de ciclos de división de linfocitos, en particular de los linfocitos CD8 (Hazenber MD et al, 2000). Esta cinética incrementada dificultaría la homeostasis normal del compartimento de linfocitos activados, mismos que serían destruidos por programas de apoptosis al cabo de un número de divisiones, lo que haría que disminuyera la generación de los linfocitos de memoria.

### **2.1.5. Respuesta inmunitaria frente a la infección por VIH**

#### **2.1.5.1. Respuesta humoral**

La infección por el VIH induce una intensa respuesta de anticuerpos hacia prácticamente todas las proteínas reguladoras y estructurales del VIH (Bandrés JC y Zolla – Pasner S, 1999). Algunos de estos anticuerpos, especialmente los dirigidos hacia gp41 y hacia los dominios variable 3 (V3) y de interacción con CD4 de la proteína gp120, tienen capacidad neutralizante *in vitro* (Nabel GL y Sullivan NJ, 2000) y en experimentos de inmunoterapia adoptiva *in vivo* (Mascola JR et al, 2000). Sin embargo, la producción de anticuerpos con capacidad neutralizante es escasa y muy rápidamente se observa un escape viral a los mismos (Richman DD et al, 2003). Esto probablemente se debe a que las partes expuestas y más inmunógenas de la proteína gp160 en su forma “compacta” son regiones altamente variables que inducen la síntesis de anticuerpos hacia los que el escape viral es sencillo mediante la mutación de los epítomos reconocidos. Por el contrario, los epítomos de interacción con el receptor, que están mucho más conservados y que serían capaces de inducir anticuerpos neutralizantes de amplio espectro, sólo se exponen cuando la proteína se despliega por la unión con CD4 (epítomos inducidos por la unión de CD4) (Kwong PD et

al, 2002, Wei X et al, 2003). Esta respuesta antiviral es incapaz de erradicar el virus que ya se ha acantonado en las primeras horas de la infección en el organismo y se limita a contener (aunque sea en una proporción importante) la replicación viral. Se establece así una infección crónica persistente en el sujeto infectado.

#### **2.1.5.2. Respuesta celular**

La mayoría de los resultados de investigación muestran que las respuestas CD4 y CD8 representan probablemente los mecanismos más importantes de protección ante el VIH (McMichael AJ y Rowland – Jones SL, 2001).

#### **2.1.5.3. Fase crónica de la infección**

En la fase crónica de la enfermedad se mantienen durante años respuestas celulares y humorales intensas frente al VIH. Esta falta de atenuación de la respuesta refleja, por una parte, la intensidad y la cronicidad de la replicación viral, que sigue estimulando persistentemente el sistema inmunitario, y por otra, la capacidad de éste para controlar durante largos períodos la replicación masiva que se produce a lo largo de toda la enfermedad. Sin embargo, los mecanismos de inmunosupresión y de destrucción de los linfocitos CD4 por el VIH se producen de forma persistente, y a medio plazo conllevarán una incapacidad progresiva del sistema inmunitario para contener la replicación viral. A esto se unirá la emergencia de variantes más agresivas del VIH que aumentarán la destrucción inmunológica, y desplazará el equilibrio virus – hospedador a una situación en la que el virus se replica de forma acelerada y el hospedador está en una grave inmunosupresión (Alcamí J, 2004).

#### **2.1.5.4. Estadio avanzado de la enfermedad**

Los estadios finales de la enfermedad se caracterizan clínicamente por la aparición de infecciones oportunistas. Desde el punto de vista inmunológico, por la caída de linfocitos CD4, y con respecto al virus, por la elevación de la carga viral. En esta etapa se observa un deterioro de la respuesta humoral y celular frente al VIH: disminuyen los niveles de anticuerpos ante p24 y otras proteínas virales, decrece la tasa de anticuerpos neutralizantes, la actividad citotóxica y el número de linfocitos CD8, y se observa un deterioro en la actividad citotóxica mediada por anticuerpo (ADCC) y NK. Esta situación

de “cataclismo inmunológico” es debida probablemente a un aumento en la cinética de replicación viral debido a la generación de mutantes de escape, incapaces de ser contenidos por el sistema (Alcamí J, 2004).

## **2.1.6. Mecanismos de escape viral**

### **2.1.6.1. Variabilidad genética**

La variabilidad del VIH se debe a la alta tasa de error de la transcriptasa inversa (una sustitución por  $10^3 - 10^4$  nucleótidos por ronda de copia). Esta falta de fidelidad genera una alta diversidad en las proteínas del virus, que le permite escapar al control de la respuesta inmunitaria específica. El VIH dispone por tanto de un mecanismo de escape inmunitario común a otros virus ARN, a los que el alto índice de variabilidad les permite encontrar agujeros en el repertorio inmunológico (Alcamí J, 2004).

### **2.1.6.2. Mutaciones en los epítomos virales reconocidos por linfocitos T citotóxicos (CTL)**

Un aspecto no comprendido totalmente en la infección por VIH – 1 es el por qué a pesar de las respuestas inmunitarias potentes en la primoinfección no se contiene la replicación viral. Aunque se han propuesto varias explicaciones la más documentada es la del escape viral a través de los epítomos del virus (Borrow P et al, 1997). El escape de la respuesta CTL se debe a las mutaciones puntuales de los epítomos virales que interaccionan con el surco de las moléculas del MHC.

### **2.1.6.3. Características bioquímicas de la envoltura viral**

La estructura de la envoltura viral en su forma nativa oculta los dominios de interacción con los correceptores virales debido a la estructura trimérica y al plegamiento de la proteína (estos procesos son denominados exclusión oligomérica y enmascaramiento entrópico respectivamente) (Wyatt R et al, 1998). La exposición de estos epítomos conservados y su identificación por los anticuerpos neutralizantes se produce en el momento de interacción entre la membrana viral y celular, un contexto en el que la eficacia de los anticuerpos es menor dada su baja accesibilidad (Kwong PD et al, 2002). Un segundo mecanismo de escape, más clásico, es el de la mutación epitópica en las regiones

hipervariables que se encuentran en el dominio externo de la envoltura viral. Sin embargo, trabajos recientes demuestran que el escape a estos anticuerpos no requiere en ocasiones de la mutación epitópica, sino que puede producirse por glucosilación de los residuos y formación de estructuras de hidratos de carbono sobre la gp120 viral denominadas “escudos glicano”, que constituyen auténticas barreras a la acción de los anticuerpos neutralizantes. A lo largo de la evolución en un paciente determinado las envolturas virales van haciéndose progresivamente más resistentes a todo tipo de neutralización por anticuerpos, al acumular los mecanismos de escape descritos previamente (Wei X et al, 2003).

#### **2.1.6.4. Rapidez en el establecimiento de la infección**

El establecimiento de la infección por el VIH después de su inoculación en el organismo por vía sexual es un proceso muy rápido. En unas horas se produce la infección de las células linfoides de la submucosa vaginal y/o rectal y en 7 días la infección se propaga a los ganglios linfáticos sistémicos, en los que la carga viral y proviral alcanza niveles de similares a los observados en la infección crónica (Haase AT, 1999). La rapidez de instauración de estos reservorios representa un gran obstáculo al control de la replicación viral, ya que el virus se establece en los linfocitos infectados y persiste en ellos incluso después de iniciada una respuesta inmune específica.

#### **2.1.6.5. Latencia y reactivación**

El VIH es capaz de infectar en forma latente sus células diana y de escapar así a la vigilancia inmunológica ya que evita que se expresen productos virales en la membrana. Por otra parte, los procesos de reactivación - reinfección son extraordinariamente rápidos (Bermejo M et al, 2004) y se producen en los centros germinales de los órganos linfoides, que presentan un microambiente celular idóneo para el proceso de infección de los linfocitos activados circundantes. En confirmación de estos datos se ha demostrado que los clones linfocitarios CD4 específicos frente al VIH, que se encuentran activados, se infectan en una proporción elevada, lo que ocasiona una inmunosupresión preferente de las respuestas específicas frente al VIH (Douek DC et al, 2002). Es importante señalar que la generación continua de las nuevas células latentemente infectadas a partir del compartimento de la replicación viral activa, genera un “archivo continuo” de los cambios

del virus a lo largo de la enfermedad, incluyendo a los genomas mutados de resistencia al tratamiento y a las variantes de escape inmunitario. El compartimento latente no es, por tanto, estático y el VIH, en cierta manera, almacena su “historia” en el mismo, lo que constituye un mecanismo de escape tanto al tratamiento con antirretrovirales como ante futuras vacunas ([Blankson JN et al, 2002](#)).

## CAPÍTULO 3

El entendimiento del ciclo biológico del VIH en la célula ha permitido el desarrollo de fármacos eficaces que actúan en alguna de las etapas del ciclo: inhibiendo la fusión (inhibidores de fusión), la transcripción inversa (inhibidores de transcriptasa inversa), la integración (inhibidores de integración) o la maduración del virus como agente infeccioso (inhibidores de proteasa). Las terapias actuales suelen ser una combinación de dos o más de estos fármacos. Con ello se aumenta la efectividad de los mismos. En este capítulo se dan a conocer los medicamentos más comunes usados actualmente, para contrarrestar el ataque del virus.

### 3. TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

El desarrollo de una vacuna para prevenir la diseminación del SIDA es una prioridad máxima para los inmunólogos, pero también tiene importancia crítica desarrollar fármacos y tratamientos que reviertan los efectos del VIH – 1 en los sujetos infectados. El ciclo de vida del VIH – 1 manifiesta varios puntos susceptibles de bloqueo por agentes farmacéuticos (figura 3.1.). La clave para los buenos resultados de estos tratamientos se encuentra en que sean específicos para el VIH – 1 e interfieran en grado mínimo con los procesos celulares normales. Hasta ahora son dos los tipos de agentes antivirales que han encontrado aplicación frecuente (tabla 3.1). El primer éxito terapéutico fue el de los agentes que interfieren en la transcripción inversa del RNA en cDNA viral. Diversos medicamentos ya en uso operan en esta etapa. Una segunda etapa de la multiplicación viral que ha resultado accesible al bloqueo es el momento en que las proteínas precursoras se escinden en las unidades necesarias para la formación de un nuevo virión maduro. Esta etapa requiere de la acción de una proteasa viral específica que puede ser inhibida por ciertos agentes químicos; con lo cual se impide la formación de partículas virales infecciosas. Un tercer tipo de fármaco recién aprobado, la enfuvirtida, es un inhibidor de la fusión que impide que el virus ingrese en las células blanco. Un cuarto tipo de fármacos son los inhibidores de integrasa que actúan en la etapa de integración del virus, inhibiendo la función de la enzima viral integrasa.

### 3.1. Inhibidores de la transcriptasa reversa

El primer fármaco exitoso que se encontró fue un inhibidor de la transcriptasa inversa. El compuesto que se había sintetizado previamente para ser usado en el cáncer, 3' – azido – 3' deoxitimidina (AZT) (también llamado zidovudina), inhibía de manera importante la transcriptasa inversa del virus (RT) y la replicación *in vitro* del VIH. Su mecanismo de acción involucraba tanto la terminación de la producción del ADN viral, como por la competencia por nucleósidos utilizados por la polimerasa viral. Sin embargo, se desconoce el o los mecanismos exactos de la actividad del AZT *in vivo*.

Poco tiempo después, se reportó la eficacia del AZT en la prevención del inicio de los síntomas de la infección por VIH (Dournon E et al, 1988).

Hasta hoy han salido al mercado varios inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (NRTI) que compiten con los nucleósidos utilizados por la RT viral para producir provirus de ADN (tabla 3.1). También se han introducido para el tratamiento tres inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos. Éstos bloquean el bolsillo hidrofóbico dentro del dominio de la polimerasa de la subunidad p66 de la RT. El uso combinado de los NNRTI con los NRTI ha demostrado tener efectos antivirales sumamente dramáticos (Deek SG, 2006).

### 3.2. Inhibidores de proteasa

Los inhibidores de proteasa (PI) bloquean la acción de otra enzima del VIH, que también es codificada por el gen pol. La proteasa autocataliza su propia proteína precursora y luego escinde otros polipéptidos para favorecer que otras proteínas virales sean funcionales, especialmente las del núcleo viral. En general, esta actividad sucede dentro del virión durante o después de la gemación a partir de la superficie celular y es bloqueada por los PI. Sin embargo, cada uno de los PI tiene efectos adversos considerables y puede tener interacción con otros medicamentos. Por ejemplo, deben considerarse varios factores cuando se recetan los PI, incluida su interacción con varias estatinas, antibióticos, anticoagulantes y otros fármacos antirretrovirales (Deichmann M et al, 1997, Piscitelli SC y Gallicano KD, 2001), así como suplementos alimenticios (Piscitelli et al, 2002). Hasta el momento ninguno de los PI ha mostrado entrar de manera eficaz al líquido cefalorraquídeo (LCR) y debe considerarse el desarrollo de cepas resistentes a los fármacos en estos

santuarios.

<b>Tabla 3.1. Algunos fármacos contra el VIH utilizados en la clínica (JK Thomas et al, 2007)</b>		
<b>Nombre genérico</b>	<b>Posología típica</b>	<b>Algunos efectos adversos potenciales</b>
<b>INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA: ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDO</b>		
Didanosina (ddl)	Dos comprimidos dos veces al día con el estómago vacío	Náuseas, diarrea, inflamación pancreática, neuropatía periférica
Entricitabina (TTC)	Un comprimido una vez al día	Cefalea, diarrea, náusea, exantema
Lamivudina (3TC)	Un comprimido dos veces al día	Por lo general ninguno
Estavudina (d4T)	Un comprimido dos veces al día	Neuropatía periférica
Zalcitabina (ddC)	Un comprimido tres veces al día	Neuropatía periférica, inflamación bucal, inflamación pancreática
Zidovudina (AZT)	Un comprimido dos veces al día	Náuseas, cefalea, anemia, neutropenia (bajos recuentos de neutrófilos), debilidad, insomnio
Comprimido con lamivudina y zidovudina	Un comprimido dos veces al día	Igual que con zidovudina
Abacavir	Dos comprimidos una vez al día	Náusea, vómito, diarrea, acidosis láctica (hepatopatía grave)
Tenofovir	Un comprimido una vez al día	Náusea, vómito, mayor riesgo de fracturas
<b>INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA: NO ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDO</b>		
Delavirdina	Cuatro comprimidos tres veces al día (mezclados con agua); no tomar durante una hora antiácidos o didanosina	Exantema, cefalea, hepatitis
Nevirapina	Un comprimido dos veces al día	Exantema, hepatitis
Efavirenz	Un comprimido una vez al día	Mareo, insomnio, exantema
<b>INHIBIDORES DE PROTEASA</b>		
Indinavir	Dos comprimidos tres veces al día con el estómago vacío o con un bocadillo bajo en grasa y no dentro de las horas siguientes a didanosina	Cálculos renales, náusea, cefalea, visión borrosa, mareo, exantema, sabor metálico, distribución anormal de grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Nelfinavir	Tres comprimidos tres veces al día con algún alimento	Diarrea, distribución anormal de la grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Ritonavir	Seis comprimidos dos veces al día (o cuatro dos veces al día si se toman con saquinavir) con alimentos, pero no dentro de las dos horas siguientes a didanosina	Náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal, cefalea, sensación de pinchazos en la piel, hepatitis, debilidad, distribución anormal de grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Saquinavir	Seis comprimidos tres veces al día (o dos comprimidos dos veces al día si se toman con ritonavir) con una comida abundante	Náuseas, diarrea, cefalea, distribución anormal de grasa, elevación de triglicéridos
Atazanavir	Dos comprimidos una vez al día	Debe usarse con otros dos fármacos cuando menos
Fosamprenavir cálcico	Dos comprimidos dos veces al día	Anorexia, malestar general, diarrea, náusea, vómito
<b>INHIBIDORES DE LA FUSIÓN</b>		
Enfuvirtida	Dos comprimidos dos veces al día	Anorexia, malestar general, diarrea, náusea, vómito

### 3.3. Tratamiento combinado

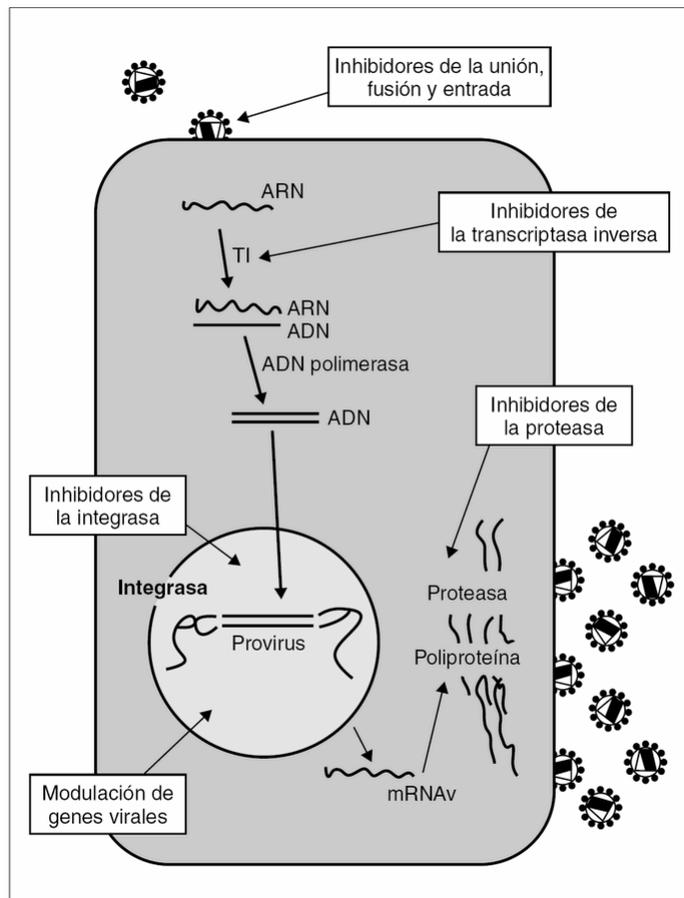
A raíz de que los efectos antivirales del tratamiento con monoterapia a base de inhibidores de RT fueron limitados, se inició la combinación de dos o tres fármacos y los resultados fueron alentadores. El efecto más dramático sobre los niveles de ARN viral se ha obtenido con un esquema de tratamiento triple. Los virus R5 y X4 son afectados por igual (Brumme ZL et al, 2003). El lanzamiento del tratamiento antirretroviral combinado, conocido como, HAART (por sus siglas en inglés Highly Active Antirretroviral Therapy) o TARAA por sus siglas en español, ha disminuido en gran medida la tasa de mortalidad por SIDA (Chan KC et al, 2002, Deek SG, 2006, Hogg RS et al, 2001) así como los síntomas clínicos de la infección por el VIH, incluidas las enfermedades cardiovasculares (Torre D et al, 2002).

En la evaluación del HAART, se han reconocido dos fases en la pérdida de células infectadas con el VIH. La primera fase refleja la rápida pérdida de células productivamente infectadas por el VIH en dos días (Cavert W et al, 1997, Perelson AS et al, 1997, Perelson AS et al, 1996). Después de esta fase inicial, hay una segunda que se ha estimado que tiene una vida media de hasta dos semanas (Perelson AS et al, 1997, Perelson AS et al, 1996). Este período refleja que existe una caída más lenta de otra población de células infectadas, quizás macrófagos/DC o células T CD4<sup>+</sup> de memoria (Perelson AS et al, 1997), las cuales pueden decaer con una vida media de dos semanas (Perelson AS et al, 1997, Perelson AS et al, 1996). Puede persistir algo de producción del VIH por las células CD4<sup>+</sup> infectadas, lo que refleja la liberación de virus de los reservorios estables. El reservorio de VIH mejor comprendido es una reserva pequeña de células T CD4<sup>+</sup> de memoria en reposo infectadas en forma latente que pueden persistir por años (vida media de 44 meses) y que representan una barrera mayor a la erradicación del VIH (Finzi D et al, 1999, Finzi D et al, 1997). La remoción del VIH de estos y otros reservorios en otros tejidos (e.g. cerebro) podría llevar mucho tiempo o ser inalcanzable.

### **3.4. Otros enfoques antivirales**

La integrasa, es una enzima viral esencial para la infección productiva del virus (Wiskerchen M, y Muesing MA, 1995). En términos generales, sin la función de la integrasa, el VIH no es infeccioso. Se están desarrollando inhibidores de la integrasa del VIH – 1 que recientemente han mostrado efectividad en los estudios realizados en macacos rhesus (Hazuda DJ et al, 2004).

Otros blancos de acción para el tratamiento antiviral incluyen bloquear el acoplamiento del VIH al receptor viral de la célula utilizando CD4 recombinante o compuestos que interrumpan la interacción de gp120 con CD4 (Guo Q et al, 2003). Se han desarrollado fármacos que evitan la fusión entre el VIH y la célula (Cammack N, 2001). Los inhibidores de la fusión tales como enfuvirtida que deben administrarse por vía subcutánea han mostrado tener eficacia anti – VIH.



**Figura 3.1.** Posibles blancos para los fármacos antirretrovirales (López Aldegue J et al, 2005)

### 3.5. Efectos del tratamiento antirretroviral sobre el VIH en otros tejidos

Uno de los mayores retos de los fármacos antirretrovirales, además de la biodisponibilidad en el plasma, es su distribución en otros tejidos, especialmente en los ganglios linfáticos, cerebro y testículos (Deeks SG et al 1997). El cerebro y los testículos tienen compartimentos que de alguna manera están separados de la sangre.

Las combinaciones actuales del tratamiento, incluyendo a los PI, pueden reducir considerablemente los niveles virales y de células infectadas por el virus tanto en sangre

como en tejido linfático (Cavert W et al, 1997, Perelson AS, 1997).

El HAART ha disminuido de manera importante los niveles del VIH del líquido céfalo raquídeo (LCR) (García F et al, 2000) y ha demostrado mejorar la función neurocognitiva (Tozzi V et al, 1999). Sin embargo, a pesar del éxito del HAART para reducir muchas de las alteraciones clínicas, el sistema nervioso central (SNC), quizá debido a la poca penetración de la barrera hematoencefálica, sigue mostrando signos y síntomas de la infección por el VIH.

En términos de santuarios virales, son varios los estudios que muestran que ciertos antirretrovirales tales como los PI, no cruzan la barrera hematoencefálica ni testicular de manera efectiva. La concentración de los fármacos en el líquido seminal puede ser un 10 % comparada con la sanguínea (Taylor S et al, 2001). Sin embargo, algunos estudios han mostrado una reducción en la propagación del virus durante el tratamiento antirretroviral (Gilliam BL et al, 1997, Gupta P et al, 1997).

En algunos casos, el HAART reduce sustancialmente la carga viral en los fluidos genitales (Vernazza PL et al, 2000) pero el virus sigue siendo detectado en las células del líquido seminal en hombres infectados por el VIH (Zhang H et al, 1998). En ciertos estudios, el HAART reducía eficazmente la carga viral en el plasma y el líquido seminal, pero no así en las secreciones rectales (Zuckerman RA et al, 2004). En otros, el ARN del VIH disminuía en las muestras anales/rectales de los pacientes bajo tratamiento, pero el número de las células infectadas no tenía gran variación (Lampinen TM et al, 2000).

El HAART reduce la cantidad de virus libre y células infectadas por el virus de los fluidos vaginales (Hart CE et al, 1999). No obstante, nuevamente la incapacidad que tienen ciertos fármacos antirretrovirales de penetrar el tracto genital femenino podría explicar la falta de eficacia en la reducción de virus asociado con las células y la resistencia viral que existe en los fluidos cervicales y vaginales (Si – Mohamed A et al, 2000). La detección de variantes del VIH – 1 resistentes a los fármacos en los fluidos genitales (Mayer KH et al, 1999, Wainberg M et al, 1993) y la asociación de los virus resistentes con la transmisión sexual (Imrie A et al, 1997) hacen mucho énfasis en la diseminación de cepas resistentes entre las distintas poblaciones.

### 3.6. Presencia de células infectadas latentemente

Poco después de la introducción del HAART, varios estudios indicaron, que a pesar de la ausencia de los niveles circulantes detectables del VIH, los reservorios de las células CD4<sup>+</sup> infectadas podrían permanecer en un individuo durante 4 a 60 años ([Chun TW et al, 1997](#), [Chun TW et al, 2005](#), [Finzi D et al, 1999](#), [Finzi D et al, 1997](#), [Wong JK et al, 1997](#)).

El establecimiento de las poblaciones de las células CD4<sup>+</sup> infectadas con vida larga (algunas de las cuales están infectadas de manera latente) puede presentarse durante la infección aguda por VIH ([Chun TW et al, 1998](#)). Por lo tanto, el tratamiento durante la infección primaria reduce los reservorios celulares, pero no previene su aparición ([Strain MC et al, 2005](#)).

La naturaleza de la infección por los retrovirus permite establecer un estado sin que haya muerte de las células infectadas. De hecho, estos reservorios celulares por lo general muestran evidencia de los virus archivados que han circulado previamente en la sangre de los individuos infectados ([Lambotte O et al, 2004](#)).

La mayoría de los enfoques para erradicar al virus hacen énfasis sobre las células del sistema inmune y no consideran a los reservorios virales en otros órganos a largo plazo, tales como el intestino, cerebro y riñón, así como el tejido y fluido genital ([Levy JA, 1988](#)). Toda esta información sugiere fuertemente que la eliminación del virus en un individuo infectado no será posible, ya que el dejar aunque sea una célula infectada, puede reiniciar la infección cuando el tratamiento sea suspendido.

## CAPÍTULO 4

La aplicación de fármacos antirretrovirales a pacientes infectados por el VIH genera una dinámica en la que el virus desaparece del plasma sanguíneo con un comportamiento en el que se ha resaltado la existencia de tres fases: una primera fase de decaimiento rápido de la carga viral del orden de días, una segunda fase de decaimiento más lento del orden de semanas y finalmente una fase de latencia viral del orden de años. Estas fases quedan determinadas por el tipo de células infectadas ya sean células de vida corta, de vida larga o infectadas crónicamente. Se han desarrollado diversos modelos matemáticos que intentan explicar esta dinámica viral. Desde modelos monocompartimentales que consideran virus libre en sangre hasta modelos multicompartimentales que toman en cuenta la contribución de virus libre de diversos compartimentos como son: el plasma sanguíneo, los espacios intersticiales de tejido linfoide y las células foliculares dendríticas. En este capítulo se hace una revisión de los distintos modelos matemáticos que explican la dinámica del VIH una vez que se aplica terapia antirretroviral. Se prefiere el modelo multicompartimental porque reproduce el incremento transitorio en la carga viral que se ha observado en pacientes al inicio del tratamiento.

### 4. DINÁMICA DEL VIH *IN VIVO*

Se han desarrollado tanto modelos deterministas como estocásticos para describir al sistema inmune, su interacción con el VIH y el decaimiento de las células T CD4<sup>+</sup>. En los modelos estocásticos no es posible controlar los factores que intervienen en el estudio del fenómeno y en consecuencia no produce resultados únicos. Cada uno de los resultados posibles se genera con una función de probabilidad que le adjudica una probabilidad a cada uno de éstos. Suelen ser usados para explicar los eventos tempranos de la enfermedad, cuando hay pocas células infectadas y un número pequeño de virus, o en situaciones donde la variabilidad entre los individuos es de interés. Los modelos deterministas examinan los cambios en el número promedio de células, y son más aplicables a las últimas etapas del proceso en el cual el tamaño de las poblaciones es grande. Estos modelos consideran la dinámica de las células T CD4<sup>+</sup> y de las poblaciones de virus, así como los efectos de la terapia con fármacos. En algunos de estos modelos se incluyen otras poblaciones del sistema inmune, tales como macrófagos.

Como ya se mencionó en el capítulo dos, la cantidad de virus detectado en la sangre aumenta dramáticamente inmediatamente después de la infección. Durante este incremento del virus, tienden a aparecer síntomas parecidos a los de la gripe. Después de unas cuantas semanas o meses, los síntomas desaparecen y la concentración del virus cae a un nivel más bajo. Ocurre una respuesta inmune contra el virus y los anticuerpos contra éste pueden ser detectados en la sangre. Una prueba para detectar estos anticuerpos se utiliza para determinar si una persona ha sido expuesta al VIH. Si los anticuerpos se detectan, se dice que la persona es VIH positivo. Una vez que la concentración de virus cae a un nivel bajo (las concentraciones de células T CD4<sup>+</sup> medidas en sangre durante este período caen ligeramente) este estado persiste y se caracteriza por ser un período asintomático que puede prolongarse hasta por 10 años (Perelson AS y Nelson PW, 1999).

Un método para determinar si el virus está activo durante el período asintomático es perturbando el sistema virus – hospedador administrando un fármaco antirretroviral a los pacientes. Los primeros datos aplicando este método mostraron que la concentración de virus cae exponencialmente en un período corto después de la administración de un potente fármaco antirretroviral. Por lo tanto, se propuso el siguiente modelo (Perelson AS y Nelson PW, 1999):

$$\frac{dV}{dt} = P - cV \quad (1)$$

donde P es una función desconocida que representa la tasa de producción de virus, c es una constante llamada la tasa constante de desaparición, y V es la concentración de virus. Si el fármaco bloquea completamente la producción viral, es decir, P = 0, entonces el modelo predice que V caerá exponencialmente, es decir,  $V(t) = V_0 e^{-ct}$  donde t = 0 es el tiempo en que inició la terapia y  $V(0) = V_0$  es la concentración de virus al inicio de la terapia.

Graficando ln (V) vs. t y usando regresión lineal para determinar la pendiente se puede estimar c y la vida media del virus en plasma como:  $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{c}$  (Perelson AS y Nelson PW, 1999)

Uno de los primeros modelos matemáticos de la dinámica del VIH – 1 en los pacientes sometidos a la terapia antirretroviral (después de la administración de un potente

inhibidor de proteasa) fue el propuesto por Perelson AS, et al en 1996. En este modelo se supone que el VIH – 1 infecta células blanco (T) a una tasa constante  $k$  convirtiéndolas en células productivamente infectadas ( $T^*$ ). Antes del tratamiento con los fármacos, las dinámicas de las células infecciosas y de la producción de viriones están representadas por:

$$\frac{dT^*}{dt} = kVT - \delta T^* \quad (2)$$

$$\frac{dV}{dt} = N\delta T^* - cV \quad (3)$$

donde  $V$  es la concentración de las partículas virales en plasma,  $\delta$  es la tasa de pérdida de células productoras de virus,  $N$  es el número de nuevos viriones producidos por célula infectada durante su vida y  $c$  es la tasa constante de desaparición para los viriones.

Se supone que el inhibidor de proteasa (ritonavir) no afecta a la supervivencia o a la producción de los viriones por las células infectadas y que los viriones nuevos generados después del retraso farmacológico no son infecciosos. Sin embargo, los viriones producidos antes de que el fármaco hiciera efecto están aún presentes. Entonces, para modelar la dinámica viral después del tratamiento con el inhibidor de proteasa se propone el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\frac{dT^*}{dt} = kV_I T - \delta T^* \quad (4)$$

$$\frac{dV_I}{dt} = -cV_I \quad (5)$$

$$\frac{dV_{NI}}{dt} = N\delta T^* - cV_{NI} \quad (6)$$

donde  $V_I$  es la concentración en el plasma de los viriones infecciosos (generados antes de que el fármaco hiciera efecto;  $V_I(t=0) = V_0$ )  $V_{NI}$  es la concentración de viriones no infecciosos (generados después que el fármaco hace efecto;  $V_{NI}(t=0) = 0$ ). En el análisis se supone que el fármaco responsable de la inhibición viral es 100 % efectivo.

Suponiendo que el sistema está en un estado quasi - estacionario antes de la aplicación del tratamiento y que la concentración de las células no infectadas  $T$  permanece aproximadamente en su valor estacionario,  $T_0$ , de las ecuaciones (4) – (6) se encuentra que

la concentración total de los viriones en plasma,  $V = V_I + V_{NI}$ , varía como:

$$V(t) = V_0 e^{-ct} + \frac{cV_0}{c - \delta} \left\{ \frac{cV_0}{c - \delta} \left[ e^{-\delta t} - e^{-ct} - \delta t e^{-ct} \right] \right\} \quad (7)$$

Usando métodos de regresión no lineales es posible estimar los valores de  $c$  y  $\delta$  para cada paciente ajustando la ecuación (7) a las medidas en plasma de copias de RNA viral.

Los valores de  $c$  estimados por Perelson et al van desde 2.06 a 3.81 día<sup>-1</sup> con una media de  $3.07 \pm 0.64$  día<sup>-1</sup>. Los correspondientes valores de  $t_{1/2}$  de los viriones libres van desde 0.18 a 0.34 días, con una media de  $0.24 \pm 0.06$  días ( $\sim 6$  horas). Los valores de  $\delta$  van desde 0.26 a 0.68 día<sup>-1</sup> con una media de  $0.49 \pm 0.13$  día<sup>-1</sup>; los correspondientes valores de  $t_{1/2}$  son 1.02 a 2.67 días, con una media de  $1.55 \pm 0.57$  días.

Observaciones posteriores con la terapia combinada (inhibidores de proteasa e inhibidores de transcriptasa inversa) mostraron que al inicio de la terapia se da un decaimiento exponencial rápido de la carga viral (primera fase) en los pacientes con VIH – 1 seguido de un decaimiento exponencial más lento (segunda fase) (Perelson AS et al, 1997). La segunda fase en el perfil de decaimiento se debe probablemente a fuentes de VIH – 1 no incluidas previamente, tales como macrófagos o células dendríticas infectadas, activación de los linfocitos infectados de forma latente o a la liberación de viriones atrapados (Perelson AS et al, 1997).

A partir de estas consideraciones Perelson et al, en 1997, idearon un nuevo modelo donde se incorporaban fuentes secundarias. El modelo contiene células,  $M$ , las cuales se infectan con una tasa constante,  $k_M$ , convirtiéndose en células infectadas de vida larga,  $M^*$ , que producen virus continuamente a una tasa promedio  $p$ , y desaparecen a una tasa constante,  $\mu_M$ . También se supone que cuando las células T CD4<sup>+</sup>,  $T$ , son infectadas, se generan células T\* con una tasa constante  $k$  y que las células T infectadas de forma latente contienen provirus infecciosos que son generados con una tasa constante  $fk$ , más pequeña que  $k$  por un factor  $f$ . Los linfocitos infectados de forma latente,  $L$ , se asume que mueren a una tasa constante  $\delta_L$ , y pueden ser activados en las células productivamente infectadas a una tasa constante  $k$ , dando una tasa total constante de pérdida. T\* desaparecen a una tasa constante,  $\delta$ , y se supone que producen un total de  $N$  viriones durante su tiempo de vida.

Los viriones,  $V$ , desaparecen a una tasa constante  $c$ . Entonces, como nuevo modelo se propone:

$$\frac{dT^*}{dt} = kVT + aL - \delta T^* \quad (8)$$

$$\frac{dL}{dt} = fkVT + aL - \mu_L T^* \quad (9)$$

$$\frac{dM^*}{dt} = k_M VM - \mu_M M^* \quad (10)$$

$$\frac{dV}{dt} = N\delta T^* + pM^* - cV \quad (11)$$

Suponiendo que la proteasa y la transcriptasa inversa son completamente inhibidos por el régimen antirretroviral y que el sistema estaba en un estado estacionario antes del tratamiento con una carga viral basal de  $V_0$  y cuentas de células T  $CD4^+$   $T_0$ , el nivel de virus en plasma después de la terapia con fármacos puede decaer como sigue:

$$V(t) = V_0 \left[ A e^{-\delta t} + B e^{-\mu_L t} + C e^{-\mu_M t} + (1 - A - B - C) e^{-ct} \right] \quad (12)$$

donde

$$A = \frac{NkT_0}{c - \delta} \left( 1 - \frac{af}{\delta - \mu_L} \right) \quad B = \frac{af\delta NkT_0}{\mu_L(\delta - \mu_L)(c - \mu_L)} \quad C = \frac{c - NkT_0 \left( 1 + \frac{af}{\mu_L} \right)}{c - \mu_M}$$

Los parámetros estimados para este estudio fueron:  $\mu_M$ , para las células infectadas, van de 0.028 a 0.119  $d^{-1}$ , con un valor promedio de  $0.061 \pm 0.033 d^{-1}$ . La correspondiente vida media, tiene un valor promedio de  $14.1 \pm 7.5 d^{-1}$ . El parámetro  $\delta$ , para las células T productivamente infectadas, va de 0.36 a 1.2  $d^{-1}$ , con un promedio de  $0.69 \pm 0.25 d^{-1}$ . Los valores correspondientes de  $t_{1/2}$  van de 0.6 a 1.9 d, con un promedio de  $1.1 \pm 0.4 d$ . El parámetro,  $\mu_L$ , para las células que acarrean provirus infecciosos va de 0.049 a 0.181  $d^{-1}$ , con un promedio de  $0.098 \pm 0.048 d^{-1}$ . La correspondiente vida media va de 3.8 a 14.1 d, con una media de  $8.5 \pm 4.0 d$ .

Müller V et al, 2002, propusieron un modelo que consideraba células infectadas productoras de virus,  $I$ , virus libre en plasma  $V_P$  y virus en tejido linfático  $V_L$ . En la

situación de pretratamiento ocurren nuevas infecciones a una tasa ( $\beta$ ) dado por  $\beta = \beta_{\max} V / (h + V)$ , donde  $\beta_{\max}$  es el valor máximo de  $\beta$  y  $h$  es un parámetro de saturación. Debido a que  $\beta_{\max} = 0$  durante la HAART, la mayoría de los resultados no dependen de la forma de esta ecuación.

El virus es producido a una tasa  $p$ , con unidades de por célula infectada por día y es desaparecido de la sangre a una tasa  $c$  y de tejido linfático (LT) a una tasa  $c_L$ . Asumiendo una respuesta inmune constante durante el tratamiento, la tasa de muerte de las células infectadas,  $\delta$ , es un parámetro fijo. Entre los dos compartimentos hay un intercambio de virus a tasas  $i$ , para el flujo hacia sangre, y  $e$  para flujo desde sangre hacia LT. La mayoría de los virus en LT están pegados en FDCs. Debido a la cinética de asociación y disociación del virus parece ser rápida, se trata al virus en LT como una sola población. Por lo tanto, la población de virus en LT en este modelo es una mezcla de virus pegado a FDCs y virus libre en LT. Por lo tanto el modelo es descrito mediante las siguientes ecuaciones:

$$\frac{dI}{dt} = \frac{\beta_{\max}}{h + V_L} V_L - \delta I \quad (13)$$

$$\frac{dV_L}{dt} = pI + eV_P - (i + c_L)V_L \quad (14)$$

$$\frac{dV_P}{dt} = iV_L - (e + c)V_P \quad (15)$$

Durante el tratamiento se bloquean las nuevas infecciones, esto equivale a establecer  $\beta = 0$  en el modelo, provocando que sea lineal. Uno puede resolver los eigenvalores del sistema completo y encontrar que  $\lambda_1 = -\delta$  y

$$\lambda_{2,3} = \frac{1}{2} \left( -(\tilde{c} + \tilde{c}_L) \pm \sqrt{(\tilde{c} - \tilde{c}_L)^2 + 4ei} \right) \quad (16)$$

No hay mecanismos biológicos conocidos que puedan transportar grandes cantidades de virus de sangre a LT,  $i$  y  $e$  podrían ser pequeños. Si el producto  $ei$  es suficientemente pequeño, es decir, si

$$4ei \ll (\tilde{c} - \tilde{c}_L)^2 \quad (17)$$

los eigenvalores se simplifican como:

$$\lambda_1 = -\delta \quad \lambda_2 = \tilde{c}_L = i + c_L \quad \lambda_3 = \tilde{c} = e + c \quad (18)$$

tal que la solución se convierte,

$$V_p = \frac{V_p(0)}{(\tilde{c} - \tilde{c}_L)(\tilde{c} - \delta)(\tilde{c}_L - \delta)} (\tilde{c}\tilde{c}_L(\tilde{c} - \tilde{c}_L)e^{-\delta t} + \tilde{c}_L\delta(\tilde{c}_L - \delta)e^{-\tilde{c}t} - \tilde{c}\delta(\tilde{c} - \delta)e^{-\tilde{c}_L t}) \quad (19)$$

Por lo tanto, la cinética de la carga viral en plasma,  $V_p$  tiene tres escalas de tiempo, fijadas por los eigenvalores.

#### 4.1. Dinámica del VIH: un modelo multicompartimental

El VIH – 1, generalmente entra a su hospedador humano, cruzando las superficies mucosas y subsecuentemente, es diseminado en todos los tejidos linfáticos. Éstos, entonces, se convierten en el reservorio donde el virus es producido y almacenado durante todo el curso de la infección. En las primeras semanas de la infección aparecen, en el torrente sanguíneo, niveles ligeramente altos de virus y antígenos virales, y la mayoría de los individuos infectados tienen una breve enfermedad que puede hacer pensar en una gripe. La etapa primaria de la infección de VIH – 1, generalmente, se resuelve y el virus y antígenos virales caen a niveles más bajos, coincidentes con la respuesta inmune celular. En la mayoría de los individuos infectados, le sigue una etapa latente, asintomática, que perdura por algunos años.

En el transcurso de la infección, las cuentas de linfocitos  $CD4^+$  en sangre disminuyen ligeramente y cuando el nivel de estas células desciende a 200 células /  $mm^3$  se define el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) donde sobrevienen enfermedades oportunistas (entre las que se encuentran la neumocistosis, la toxoplasmosis, el sarcoma de Kaposi y otras) que eventualmente terminan con la vida de la mayoría de los individuos infectados ([Pantaleo G et al, 1993](#)). La tasa de progresión a SIDA o muerte está correlacionada con los niveles de ARN viral en el torrente sanguíneo, lo cual a su vez, refleja la producción de virus en tejidos linfáticos por una cadena de mecanismos dinámicos de replicación viral, propagación e infección de nuevas células.

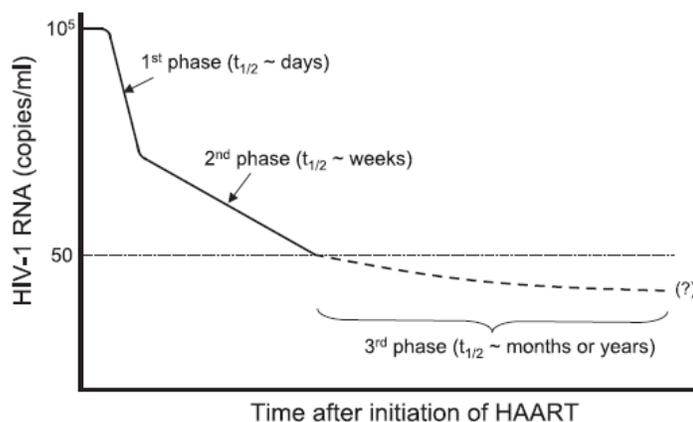
Las células foliculares dendríticas (FDC) en tejidos linfáticos juegan un papel importante en la patogénesis del VIH – 1. El VIH – 1 cruza las superficies mucosas

infectando células foliculares dendríticas o macrófagos (Haase AT, 1999). La cantidad de virus asociado con estas células excede a la cantidad en sangre por un orden de magnitud o más. La población de VIH – 1 en FDCs es un reservorio viral significativo (Haase AT, 1999). Durante la etapa asintomática de la infección la red de FDCs alberga  $\approx 10^{11}$  copias de RNA viral (Haase AT, 1996). Esta población de virus, la cual compone una gran fracción de la carga viral en un paciente infectado, puede influenciar la dinámica del VIH -1, dado su gran tamaño y la pérdida de virus de las FDCs durante la aplicación de terapia antirretroviral. La población de virus en FDCs puede, por lo tanto, perpetuar la infección y suprimir las defensas inmunológicas.

La historia natural de la infección y sus consecuencias en el organismo, han sido dramáticamente alteradas por tratamientos que hacen uso de combinaciones de drogas antirretrovirales que rompen la cadena de ciclos del virus requeridos para mantener su producción y su grado de infección. Bajo circunstancias óptimas, en individuos no tratados previamente, la terapia antirretroviral altamente activa (HAART) puede suprimir la replicación del VIH – 1 a niveles indetectables en el torrente sanguíneo y en el reservorio de los tejidos linfáticos. Aunque la células infectadas de forma latente de vida larga no son erradicadas por la HAART, el control de la infección de VIH – 1 activo se traduce en un incremento en los linfocitos CD4<sup>+</sup> en sangre y tejidos linfáticos, una restauración parcial de la función inmune y un decremento de las enfermedades oportunistas y muertes debidas al VIH.

El análisis cuantitativo de las características de decaimiento viral en pacientes con VIH - 1 durante tratamiento con terapia antirretroviral sugiere que la carga viral en plasma disminuye, al menos, en tres fases (figura 4.1) (Kim H y Perelson AS, 2006). Después de un período de meseta inicial, que refleja el retraso farmacocinético de las drogas y el decaimiento intracelular requerido para que una célula nueva infectada empiece a producir progenie viral (Perelson AS et al, 1996, Herz AV et al, 1996), la carga viral cae exponencialmente por uno o dos órdenes de magnitud durante las primeras dos semanas de la terapia (primera fase). Esto refleja la rápida desaparición viral y el cambio brusco de linfocitos CD4<sup>+</sup> infectados productivamente con una vida media de menos de un día (Perelson AS et al, 1996). Entonces, una segunda fase de decaimiento más lento aparece con una vida media de 1 – 4 semanas (Perelson AS et al, 1997), misma que refleja las

contribuciones de diversas fuentes a la población de virus en plasma entre las que se incluyen, poblaciones de células infectadas de vida larga, tales como los macrófagos infectados (Ho DD et al, 1986), las células T CD4<sup>+</sup> en un estado más bajo de activación que permiten niveles más bajos de replicación viral (Zhang Z et al, 1999); y la liberación de virus desde tejidos fuentes, tales como, virus unidos reversiblemente a células foliculares dendríticas en los centros germinales de tejido linfoide periférico (Hlavacek WS et al, 1996, Hlavacek WS et al, 2000, Cavert W et al, 1997). Después de algunos meses de terapia antirretroviral, el RNA viral en plasma de pacientes decrece a niveles más bajos que 50 copias / ml (Perelson AS et al, 1997, Hammer SM et al, 1997, Gulick RM et al, 1997), lo que representa el límite de detección de las pruebas clínicas comunes. Sin embargo, aun en pacientes con supresión de carga viral de menos de 50 copias / ml por varios años, un nivel bajo de virus puede persistir en plasma y en otros compartimentos del cuerpo, tales como semen y puede ser detectado por pruebas supersensibles que tienen un límite de detección más bajo, de 1 – 5 copias / ml (Dornadula G et al, 1999, Yerly S et al, 2000, Di Mascio M et al, 2003, Palmer S et al, 2003). Esta fase, con una carga viral menor a 50 copias / ml corresponde a la tercera etapa del decaimiento. La fuente de esta viremia persistente no ha sido completamente explicada y permanece controversial. Una posibilidad es que la terapia antirretroviral no sea completamente supresiva y en realidad el VIH – 1 continua replicándose (Pomerantz RJ, 2003) en sitios donde la penetración de la droga es pobre. Otra posibilidad es que aunque la terapia es completamente supresiva, el VIH – 1 provoca una infección latente en linfocitos T CD4<sup>+</sup> de memoria en reposo (Chun TW et al, 1995, Chun TW et al, 1997) y causa una viremia continua por la liberación de virus debido a la activación de estas células infectadas latentemente (Nettles RE et al, 2005).



**Figura 4.1.** Esquema de la dinámica de decaimiento del VIH – 1 después de la iniciación de la terapia antirretroviral (Kim H y Perelson AS, 2006).

Se han elaborado modelos matemáticos que describen la dinámica de las células del sistema inmunológico y de los virus en tres compartimentos (Cocho G et al, 2002) (figura 4.2): el plasma sanguíneo, las células foliculares dendríticas y los espacios intersticiales en órganos linfoides para explicar la dinámica del VIH – 1 ante la aplicación de inhibidores de proteasa, retrotranscriptasa y terapias mixtas como el HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy). Este modelo predice los distintos ritmos de decaimiento de la carga viral a lo largo de tres fases temporales muy distintas, que van desde las primeras horas después del inicio del tratamiento, a semanas y hasta meses, asignando un mecanismo fisiológico a cada cambio de ritmo.

Como se mencionó anteriormente, en el modelo matemático se estudian las razones de cambio de las poblaciones de partículas del VIH – 1 en tres compartimentos (figura 4.2): virus libre en plasma sanguíneo (BP), denotado por  $V_B$ , virus libre en espacios intersticiales del tejido linfático (LT - IS),  $V_L$ , y virus ligado en forma de complejos inmunes a las células foliculares dendríticas (FDC)  $V_F$ , con tasas de desaparición intrínsecas  $c_B$ ,  $c_L$  y  $c_F$ , respectivamente. En el modelo se pueden considerar números totales de partículas o sus concentraciones. Se supone que el virus es generado en el plasma y en el tejido linfático tanto por células con una vida media relativamente corta, como es el caso de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> infectados y productores de virus, como por células infectadas crónicamente, con una vida media mucho más larga, tales como los macrófagos o las células de memoria. Los números de estas células en cada compartimento se denotan por  $T_B^*$ ,  $T_L^*$ ,  $M_B^*$  y  $M_L^*$ , respectivamente, con tasas promedio de decaimiento  $\delta_B$ ,  $\delta_L$ ,  $\mu_B$  y  $\mu_L$ .

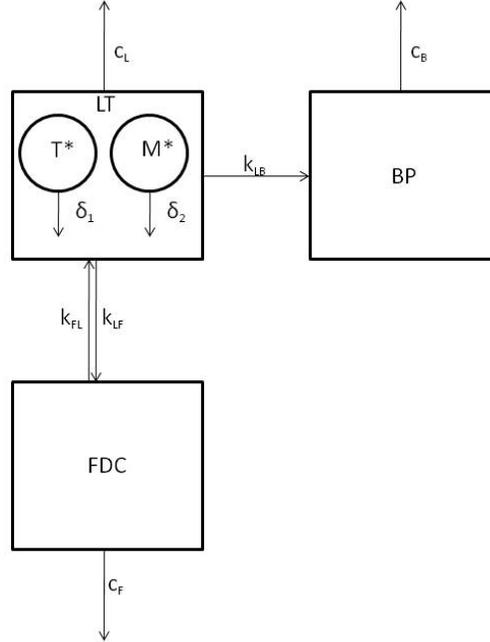
Es factible considerar que  $\delta_B = \delta_L = \delta_1$  y  $\mu_B = \mu_L = \delta_2$ . Por otro lado consideramos que los linfocitos T CD4<sup>+</sup> no infectados, denotados por  $T_B$  (en plasma) y  $T_L$  (tejido linfático), pueden infectarse a una razón  $k_T$ , mientras que las células de vida larga se infectan a una razón distinta  $k_M$ . De acuerdo con lo anterior la dinámica de los distintos tipos de células en el plasma y en el tejido linfático está descrita por las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dT_B^*}{dt} = k_T V_B T_B - \delta_1 T_B^* \quad (20)$$

$$\frac{dM_B^*}{dt} = k_M V_B M_B - \delta_2 M_B^* \quad (21)$$

$$\frac{dT_L^*}{dt} = k_T V_L T_L - \delta_1 T_L^* \quad (22)$$

$$\frac{dM_L^*}{dt} = k_M V_L M_L - \delta_2 M_L^* \quad (23)$$



**Figura 4.2.** Esquema que ilustra el modelo multicompartmental. El compartimento de tejido linfático (LT) tiene como fuentes productoras de viriones células infectadas de vida corta ( $T^*$ ) y células infectadas de vida larga ( $M^*$ ). Los virus pueden ser transferidos desde las células dendríticas foliculares (FDC) a tejido linfático a una tasa  $k_{LF}$ , o bien, pueden transitar de tejido linfático a FDC a una tasa  $k_{FL}$ . El compartimento de plasma sanguíneo (BP) es alimentado por virus por el compartimento de LT a una tasa de transferencia  $k_{LB}$ . El virus desaparece de los tres compartimentos a tasas  $c_L$ ,  $c_F$  y  $c_B$ , respectivamente.

Si suponemos que cada célula infectada en cualquier compartimento produce  $N_T$  partículas virales durante su tiempo de vida, entonces las fuentes productoras de virus de vida corta serán de la forma  $S_B = N_T \delta_T T_B^*$  y  $S_L = N_T \delta_T T_L^*$ , mientras que las fuentes de vida larga estarán dadas por  $M_B = N_M \delta_M M_B^*$  y  $M_L = N_L \delta_L M_L^*$ , respectivamente. En esos términos, la razón de cambio de los virus en los distintos compartimentos puede representarse por:

$$\frac{dV_B}{dt} = S_B + M_B - (c_B + k_{BL})V_B + k_{LB}V_L \quad (24)$$

$$\frac{dV_L}{dt} = S_L + M_L - (c_B + k_{LB} + k_{LF})V_L + k_{BL}V_B + k_{FL}V_F \quad (25)$$

$$\frac{dV_F}{dt} = -(c_F + k_{FL})V_F + k_{LF}V_L \quad (26)$$

donde  $k_{LB}$  y  $k_{BL}$  son las tasas de transferencia viral desde el plasma a los nodos linfáticos y viceversa, y  $k_{LF}$  y  $k_{FL}$  son las tasas de transferencia del virus de los nodos linfáticos a las células foliculares dendríticas (FDCs). La estructura de estas ecuaciones nos lleva a definir tasas de desaparición efectivas en BP, LT – IS y FDC como sigue:  $\tilde{c}_B = c_B + k_{BL}$ ,  $\tilde{c}_L = c_L + k_{LB} + k_{LF}$ , y  $\tilde{c}_F = c_F + k_{FL}$ . Esto implica que las tasas de transferencia viral podrían ser diferentes de las tasas de desaparición intrínsecas y debido a la transferencia viral entre compartimentos.

Las soluciones estacionarias de este conjunto de ecuaciones diferenciales (24 – 26) da la cantidad relativa de partículas virales las cuales están en un estado de equilibrio cuasi – estático antes de la terapia antirretroviral. Por lo tanto, la cantidad de virus en plasma sanguíneo es:

$$V_B(0) = \frac{S_B(0) + k_{LB}V_L(0)}{\tilde{c}_B} \quad (27)$$

<b>Tabla 4.1.</b> Definición de variables y parámetros en el modelo	
<b>Parámetros</b>	<b>Definición</b>
$\delta_1$	Tasa promedio de decaimiento de células con vida corta (T CD4 <sup>+</sup> )
$\delta_2$	Tasa promedio de decaimiento de células con vida larga (macrófagos)
$k_T$	Tasa de infectividad de células con vida corta (T CD4 <sup>+</sup> )
$k_M$	Tasa de infectividad de células con vida larga (macrófagos)
$c_X$	Tasa de desaparición intrínseca del virus en el compartimento X
$k_{XY}$	Tasa de transferencia viral del compartimento X al compartimento Y
<b>Variables</b>	<b>Definición</b>
$T_X$	Número de células no infectadas de vida corta (T CD4 <sup>+</sup> ) en el compartimento X
$M_X$	Número de células no infectadas de vida larga (macrófagos) en el compartimento X
$T_X^*$	Número de células de vida corta infectadas (T CD4 <sup>+</sup> ) en el compartimento X
$M_X^*$	Número de células de vida larga infectadas (macrófagos) en el compartimento X
$V_X$	Número de virus en el compartimento X

mientras que la cantidad de virus asociados con células en tejido linfático es:

$$V_L(0) = \frac{S_L(0) + k_{BL}V_B(0) + k_{FL}V_F(0)}{\tilde{c}_L} \quad (28)$$

y la cantidad de virus unidos a FDC's:

$$V_F(0) = \frac{k_{LF}V_L(0)}{\tilde{c}_F} \quad (29)$$

Solamente alrededor del 2% del virus está presente en plasma sanguíneo (Haase AT, 1996), por lo tanto,  $S_B$  es despreciable comparado con otras fuentes. Bajo esta consideración de la ecuación (24) se obtiene:

$$\frac{V_B(0)}{V_L(0)} \approx \frac{k_{LB}}{\tilde{c}_B} \sim 10^{-2} \quad (30)$$

De manera análoga, de la ecuación (26), obtenemos la fracción relativa:

$$\frac{V_F(0)}{V_L(0)} \approx \frac{k_{LF}}{\tilde{c}_F} \sim 10^2 \quad (31)$$

Los parámetros involucrados en las ecuaciones se determinan usando datos clínicos de la carga viral en sangre de los pacientes en diferentes etapas antes y después de HAART.

Si suponemos que la terapia es 100 % efectiva, lo cual equivale a hacer las tasas de infectividad  $k_M = k_T = 0$ , entonces se sigue que el sistema de ecuaciones 20 – 23, que describe la dinámica celular, se desacopla de las ecuaciones 24 – 26, que representa la dinámica de las poblaciones virales en los distintos compartimentos. Una consideración adicional que nos permite simplificar nuestro sistema de ecuaciones es que las fuentes virales en plasma sanguíneo,  $S_B$  y  $M_B$ , así como la tasa de transferencia  $k_{BL}$  son despreciables.

Una vez hechas estas consideraciones, el nuevo sistema de ecuaciones diferenciales a resolver es:

$$\frac{dT_B^*}{dt} = -\delta_1 T_B^* \quad (32)$$

$$\frac{dM_B^*}{dt} = -\delta_2 M_B^* \quad (33)$$

$$\frac{dV_B}{dt} = -c_B V_B + k_{LB} V_L \quad (34)$$

$$\frac{dV_L}{dt} = N\delta_1 T_L^* + N\delta_2 M_L^* - \tilde{c}_L V_L + k_{FL} V_F \quad (35)$$

$$\frac{dV_F}{dt} = -\tilde{c}_F V_F + k_{LF} V_L \quad (36)$$

En forma matricial, el sistema anterior (32 – 36) se puede escribir de la siguiente forma:

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} T^* \\ M^* \\ V_B \\ V_L \\ V_F \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -\delta_1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -\delta_2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -c_B & k_{LB} & 0 \\ N\delta_1 & N\delta_2 & 0 & -\tilde{c}_L & k_{FL} \\ 0 & 0 & 0 & k_{LF} & -\tilde{c}_F \end{bmatrix} \begin{bmatrix} T^* \\ M^* \\ V_B \\ V_L \\ V_F \end{bmatrix} \quad (37)$$

La expresión anterior representa un sistema homogéneo de ecuaciones lineales de primer orden con coeficientes constantes, es decir, un sistema de la forma:

$$\frac{dY}{dt} = AY \quad (38)$$

donde A es la matriz de coeficientes y Y representa la matriz de variables. La solución general de este tipo de ecuaciones es:

$$Y = c_1 \xi_1 e^{\lambda_1 t} + \dots + c_n \xi_n e^{\lambda_n t} \quad (39)$$

donde  $\lambda_1 \dots \lambda_n$  son los eigenvalores de la matriz  $\mathbf{A}$ ,  $c_1 \dots c_n$  son constantes cuyos valores dependen de las condiciones iniciales y  $\xi_1 \dots \xi_n$  son eigenvectores linealmente independientes que cumplen con la ecuación:

$$A\xi = \lambda\xi \quad (40)$$

En nuestro caso, para el cálculo de los eigenvalores se procede de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
\text{Det}(A - \lambda I) &= \begin{bmatrix} -\delta_1 - \lambda & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -\delta_2 - \lambda & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -c_B - \lambda & k_{LB} & 0 \\ N\delta_1 & N\delta_2 & 0 & -\tilde{c}_L - \lambda & k_{FL} \\ 0 & 0 & 0 & k_{LF} & -\tilde{c}_F - \lambda \end{bmatrix} = \\
&= (-\delta_1 - \lambda)(-\delta_2 - \lambda)(-c_B - \lambda) \begin{bmatrix} -\tilde{c}_L - \lambda & k_{FL} \\ k_{LF} & -\tilde{c}_F - \lambda \end{bmatrix} = \\
&= (-\delta_1 - \lambda)(-\delta_2 - \lambda)(-c_B - \lambda) [(\tilde{c}_L + \lambda)(\tilde{c}_F + \lambda) - k_{FL}k_{LF}]
\end{aligned}$$

A partir de la expresión anterior se obtiene el polinomio característico:

$$(-\delta_1 - \lambda)(-\delta_2 - \lambda)(-c_B - \lambda) [\tilde{c}_L \tilde{c}_F - k_{FL} k_{LF} + (\tilde{c}_L + \tilde{c}_F)\lambda + \lambda^2] = 0 \quad (41)$$

Resolviendo la ecuación característica, se obtienen los eigenvalores:

$$\lambda_1 = -\delta_1 \quad \lambda_2 = -\delta_2 \quad \lambda_3 = -c_B \quad \lambda_{4,5} = \frac{-\tilde{c}_L - \tilde{c}_F \pm \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}}{2} \quad (42)$$

Haciendo uso de la expresión (40) se procede a calcular los eigenvectores para cada uno de los eigenvalores obtenidos. Considerando que el vector  $\xi$  tiene componentes  $w_1, w_2, w_3, w_4, w_5$ , se tiene:

$$\begin{bmatrix} -\delta_1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -\delta_2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -c_B & k_{LB} & 0 \\ N\delta_1 & N\delta_2 & 0 & -\tilde{c}_L & k_{FL} \\ 0 & 0 & 0 & k_{LF} & -\tilde{c}_F \end{bmatrix} \begin{bmatrix} w_1 \\ w_2 \\ w_3 \\ w_4 \\ w_5 \end{bmatrix} = \lambda \begin{bmatrix} w_1 \\ w_2 \\ w_3 \\ w_4 \\ w_5 \end{bmatrix} \quad (43)$$

Por lo tanto, el sistema de ecuaciones a resolver para cada uno de los eigenvalores es:

$$\begin{aligned}
(\lambda + \delta_1)w_1 &= 0 \\
(\lambda + \delta_2)w_2 &= 0 \\
(\lambda + c_B)w_3 - k_{LB}w_4 &= 0 \\
(\lambda + \tilde{c}_L)w_4 - k_{FL}w_5 - N\delta_1w_1 - N\delta_2w_2 &= 0 \\
(\lambda + \tilde{c}_F)w_5 - k_{LF}w_4 &= 0
\end{aligned}$$

Haciendo el álgebra correspondiente se obtienen los eigenvectores para cada eigenvalor

Para  $\lambda_1 = -\delta_1$

$$\begin{bmatrix} (\tilde{c}_L - \delta_1)(\tilde{c}_F - \delta_1) - k_{LF}k_{FL} & 0 & \frac{k_{LB}N\delta_1(\tilde{c}_F - \delta_1)}{c_B - \delta_1} & (\tilde{c}_F - \delta_1)N\delta_1 & k_{LF}N\delta_1 \end{bmatrix} \quad (44)$$

Para  $\lambda_2 = -\delta_2$

$$\begin{bmatrix} 0 & (\tilde{c}_L - \delta_2)(\tilde{c}_F - \delta_2) - k_{LF}k_{FL} & \frac{k_{LB}N\delta_2(\tilde{c}_F - \delta_2)}{c_B - \delta_2} & (\tilde{c}_F - \delta_2)N\delta_2 & k_{LF}N\delta_2 \end{bmatrix} \quad (45)$$

Para  $\lambda_3 = -c_B$

$$[0 \quad 0 \quad 1 \quad 0 \quad 0] \quad (46)$$

$$\text{Para } \lambda_4 = \frac{-\tilde{c}_L - \tilde{c}_F + \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}}{2}$$

$$\begin{bmatrix} 0 & 0 & \frac{2k_{LB}}{2c_B - \tilde{c}_L - \tilde{c}_F + \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} & 1 & \frac{2k_{LF}}{\tilde{c}_F - \tilde{c}_L + \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} \end{bmatrix} \quad (47)$$

$$\text{Para } \lambda_5 = \frac{-\tilde{c}_L - \tilde{c}_F - \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}}{2}$$

$$\begin{bmatrix} 0 & 0 & \frac{2k_{LB}}{2c_B - \tilde{c}_L - \tilde{c}_F - \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} & 1 & \frac{2k_{LF}}{\tilde{c}_F - \tilde{c}_L - \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} \end{bmatrix} \quad (48)$$

Por lo tanto, la solución general queda determinada por la ecuación (38) mediante la expresión:

$$\begin{aligned}
\begin{bmatrix} T^* \\ M^* \\ V_B \\ V_L \\ V_F \end{bmatrix} &= c_1 \begin{bmatrix} (\tilde{c}_L - \delta_1)(\tilde{c}_F - \delta_1) - k_{LF}k_{FL} \\ 0 \\ \frac{k_{LB}N\delta_1(\tilde{c}_F - \delta_1)}{c_B - \delta_1} \\ (\tilde{c}_F - \delta_1)N\delta_1 \\ k_{LF}N\delta_1 \end{bmatrix} e^{-\delta_1 t} + c_2 \begin{bmatrix} 0 \\ (\tilde{c}_L - \delta_2)(\tilde{c}_F - \delta_2) - k_{LF}k_{FL} \\ \frac{k_{LB}N\delta_2(\tilde{c}_F - \delta_2)}{c_B - \delta_2} \\ (\tilde{c}_F - \delta_2)N\delta_2 \\ k_{LF}N\delta_2 \end{bmatrix} e^{-\delta_2 t} + \\
&+ c_3 \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} e^{-c_B t} + c_4 \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{2k_{LB}}{2c_B - \tilde{c}_L - \tilde{c}_F + \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} \\ \frac{1}{2k_{LF}} \\ \frac{1}{\tilde{c}_F - \tilde{c}_L + \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} \end{bmatrix} e^{-\frac{\tilde{c}_F + \tilde{c}_L - \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}}{2} t} + \\
&+ \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{2k_{LB}}{2c_B - \tilde{c}_L - \tilde{c}_F - \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} \\ \frac{1}{2k_{LF}} \\ \frac{1}{\tilde{c}_F - \tilde{c}_L - \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}} \end{bmatrix} e^{-\frac{\tilde{c}_F + \tilde{c}_L + \sqrt{(\tilde{c}_L - \tilde{c}_F)^2 + 4k_{FL}k_{LF}}}{2} t}
\end{aligned} \tag{49}$$

Como ya se mencionó anteriormente las constantes  $c_1 \dots c_n$  quedan determinadas por las condiciones iniciales del sistema. Para el caso en el que el sistema se encuentra en estado estacionario, estas condiciones iniciales se reducen a:

$$\begin{aligned}
T^*(t=0) &= \frac{k_T V_B(0) c_B T_0}{k_{LB} \delta_1}, \quad M^*(t=0) = \frac{k_M V_B(0) c_B M_0}{k_{LB} \delta_2}, \quad V_B(t=0) = V_B(0) \\
V_L(t=0) &= \frac{V_B(0) c_B}{k_{LB}}, \quad V_F(t=0) = \frac{k_{LF} V_B(0) c_B}{\tilde{c}_F k_{LB}} \quad (50)
\end{aligned}$$

Suponiendo que el sistema está en estado cuasi – estacionario antes de la aplicación de la terapia antirretroviral y que la concentración de células no infectadas de vida corta T y de vida larga M permanecen en sus valores estacionarios  $T_0$  y  $M_0$  respectivamente después de la administración del fármaco, se obtiene que la concentración de virus en plasma sanguíneo está dada por la expresión:

$$\begin{aligned}
V_B(t) = V_B(0)c_B \left\{ \frac{Nk_T T_0 (k_{FL} - \delta_1)}{A(c_B - \delta_1)} e^{-\delta_1 t} + \frac{Nk_M M_0 (k_{FL} - \delta_2)}{B(c_B - \delta_2)} e^{-\delta_2 t} + \left[ \frac{1}{c_B} - \frac{2}{C+D} \left( 1 + \right. \right. \right. \\
\left. \left. \left. + \frac{4k_{FL} k_{LF}}{(D+E)(C-D)} \right) + \frac{4k_{LF}}{C^2 - D^2} - \frac{Nk_T T_0}{A} ((k_{FL} - \delta_1) \left( \frac{1}{c_B - \delta_1} - \frac{2}{C+D} - \frac{8k_{LF} k_{FL}}{(D+E)(C^2 - D^2)} \right) + \right. \right. \\
\left. \left. + \frac{4k_{FL} k_{LF}}{C^2 - D^2} \right) - \frac{Nk_M M_0}{B} ((k_{FL} - \delta_2) \left( \frac{1}{c_B - \delta_2} - \frac{2}{C+D} - \frac{8k_{LF} k_{FL}}{(D+E)(C^2 - D^2)} \right) + \frac{4k_{FL} k_{LF}}{C^2 - D^2}) \right] e^{-c_B t} + \\
\left. + \left[ 1 - \frac{Nk_T T_0}{A} \left( k_{FL} - \delta_1 + \frac{k_{FL} k_{LF}}{D} \left( 1 - \frac{2(k_{FL} - \delta_1)}{D+E} \right) \right) - \frac{Nk_M M_0}{B} \left( k_{FL} - \delta_2 + \frac{k_{FL} k_{LF}}{D} \left( 1 - \frac{2(k_{FL} - \delta_2)}{D+E} \right) \right) - \right. \right. \\
\left. \left. - \frac{k_{FL}}{D} \left( \frac{2k_{LF}}{D+E} - \frac{k_{LF}}{k_{FL}} \right) \right] \frac{2}{C+D} e^{-\left(\frac{F-D}{2}\right)t} + \left[ \frac{k_{FL}}{D} \left( \frac{2k_{LF}}{D+E} - \frac{k_{LF}}{k_{FL}} \right) + \frac{Nk_T T_0 k_{LF} k_{FL}}{AD} \left( 1 - \frac{2(k_{FL} - \delta_1)}{D+E} \right) + \right. \right. \\
\left. \left. + \frac{Nk_M M_0 k_{LF} k_{FL}}{BD} \left( 1 - \frac{2(k_{FL} - \delta_2)}{D+E} \right) \right] \frac{2}{D-E} e^{-\left(\frac{F+D}{2}\right)t} \right\} \quad (50)
\end{aligned}$$

Donde:

$$\begin{aligned}
A &= (c_L + k_{LB} + k_{LF} - \delta_1)(k_{FL} - \delta_1) - k_{LF} k_{FL}, & B &= (c_L + k_{LB} + k_{LF} - \delta_2)(k_{FL} - \delta_2) - k_{LF} k_{FL} \\
C &= 2c_B - c_L - k_{LB} - k_{LF} - k_{FL}, & D &= \sqrt{(c_L + k_{LB} + k_{LF} - k_{FL})^2 + 4k_{FL} k_{LF}}, \\
E &= k_{FL} - c_L - k_{LB} - k_{LF}, & F &= k_{FL} + c_L + k_{LB} + k_{LF}
\end{aligned}$$

Expresiones similares se obtienen para  $V_L(t)$  y  $V_F(t)$ . La importancia de obtener una expresión analítica para la dinámica del virus en plasma sanguíneo es que nos permite caracterizar y determinar ciertos parámetros mediante el ajuste de la ecuación (50) a datos experimentales ya que, generalmente, el acceso mediante pruebas estándar a los demás compartimentos es limitado.

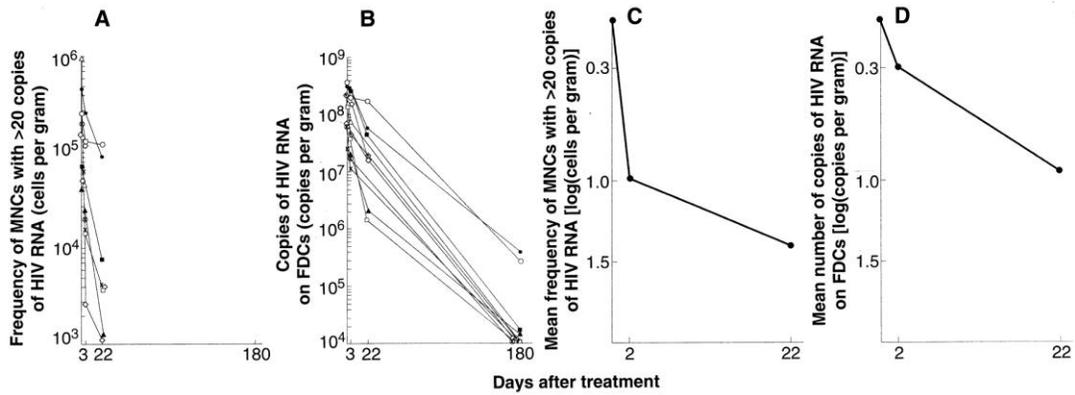
#### 4.1.1. Predicciones teóricas

En la infección por el VIH – 1, la medida de carga viral en plasma sanguíneo es una guía útil para la prognosis y la eficacia del tratamiento antirretroviral. Además, es un compartimento de fácil acceso y en el que la carga viral se puede medir con pruebas estándar. No obstante, el impacto del tratamiento solamente puede ser evaluado completamente en los reservorios de tejido linfático, donde la mayoría del virus es producido por linfocitos  $CD4^+$ , macrófagos y otras células mononucleares linfoides (MNCs) y almacenado en complejos inmunes sobre la superficie de FDCs. En la etapa asintomática de la infección, la población de virus en FDCs es al menos un orden de magnitud más grande que en MNCs (Haase AT et al 1996). De igual manera, los viriones asociados a los compartimentos del tejido linfático exceden por varios órdenes de magnitud

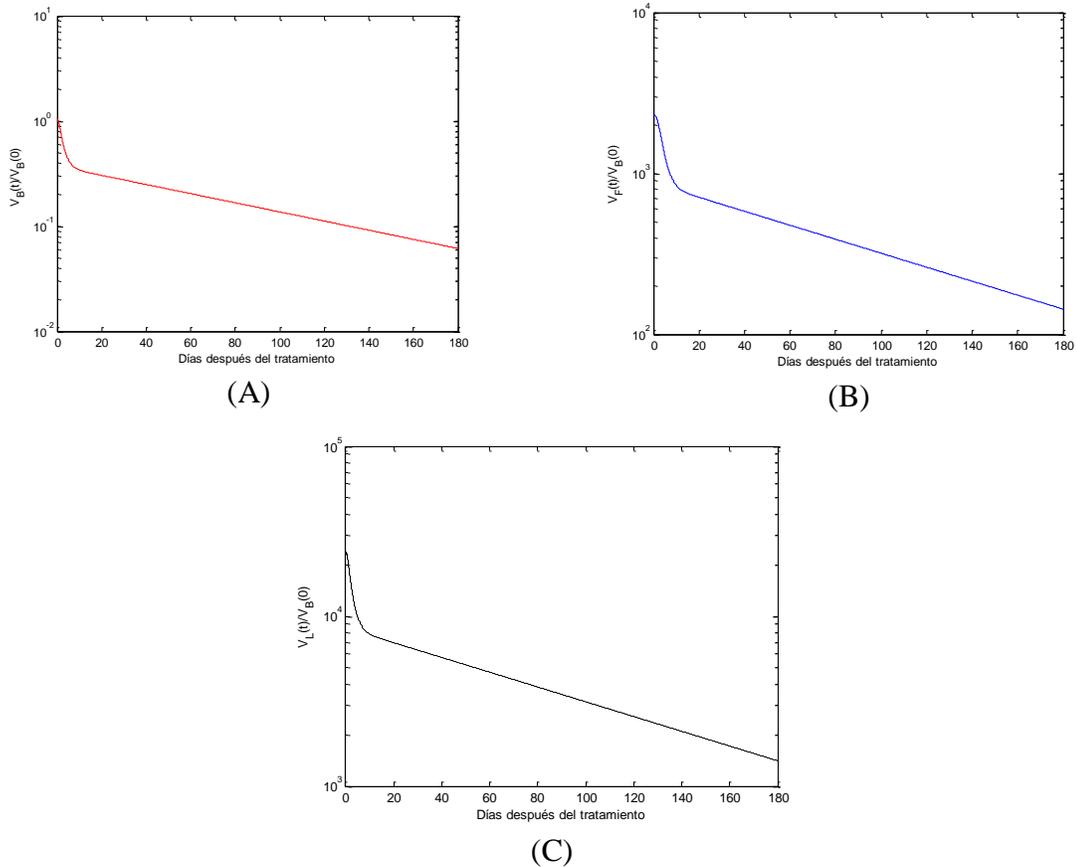
la cantidad de virus libre y del virus asociado con las células circulando en el torrente sanguíneo.

Una vez que se aplica el tratamiento antirretroviral con los inhibidores de proteasa e inhibidores de la retrotranscriptasa se observan cambios en los dos compartimentos celulares (FDCs y LT), que siguen una dinámica de decaimiento paralelo bifásico, rápido inicialmente y más lento posteriormente. (figura 4.3.). Para validar el modelo multicompartimental es importante garantizar que reproduce de manera plausible el comportamiento observado anteriormente. Como se puede observar en la figura 4.4., los tres compartimentos: FDCs, LT, BP, muestran un decaimiento de la carga viral después de aplicar terapia antirretroviral. Este comportamiento consta de dos fases: un decaimiento rápido y un decaimiento lento, que coincide con el comportamiento reportado por los experimentos (Cavert et al, 1997). Asimismo, se reafirma la idea de que el compartimento de plasma sanguíneo es un excelente pronosticador de la eficacia del tratamiento antirretroviral.

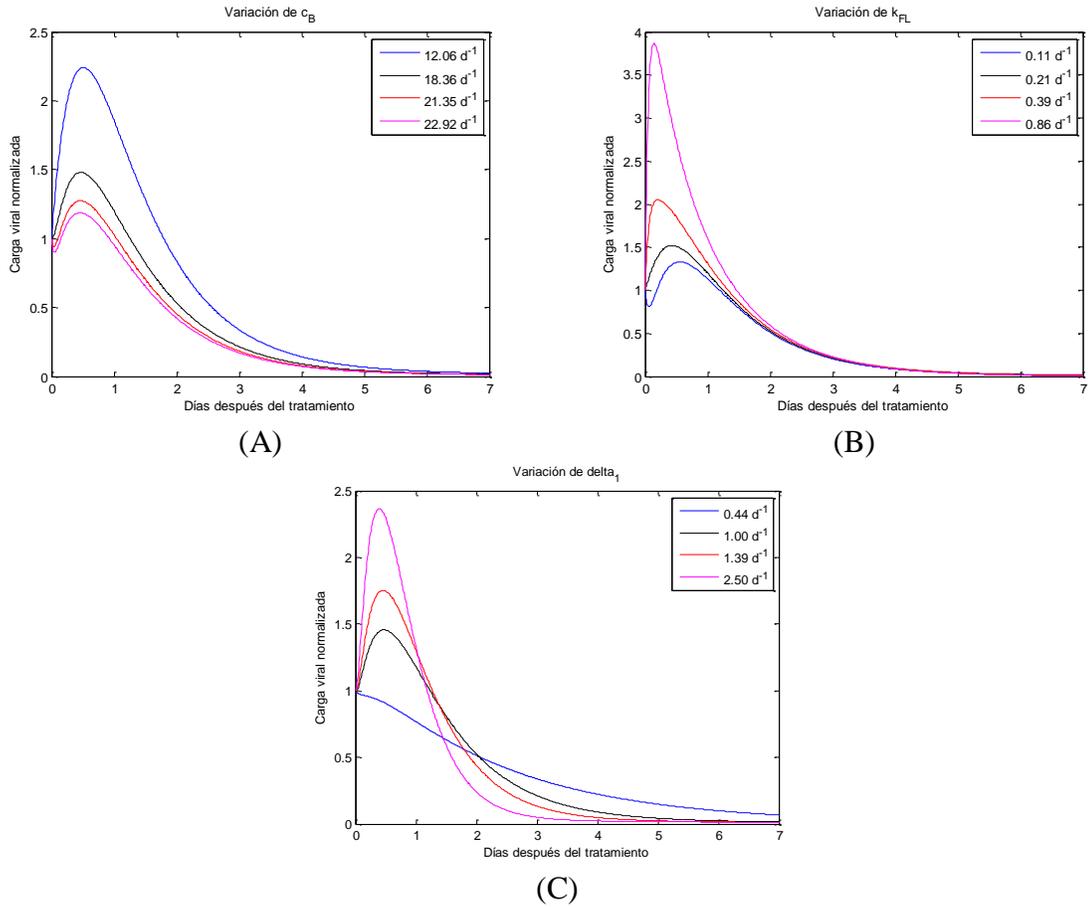
Es importante hacer notar que el comportamiento bifásico observado en los tres compartimentos, generalmente va acompañado de un aumento transitorio de la viremia una vez iniciada la terapia antirretroviral (figura 4.5). Este incremento, puede explicarse por la diferencia en las magnitudes de tres parámetros  $c_B$ ,  $k_{FL}$ , y  $\delta_I$  para el caso en el que se considera que el sistema se encuentre en un estado no estacionario (figura 4.5) y  $Nk_T T_0$ ,  $Nk_M M_0$ ,  $\delta_I$ ,  $\delta_2$  para el caso en que se considera que el sistema se encuentra en un estado estacionario.



**Figura 4.3.** Efecto del tratamiento sobre la frecuencia de células mononucleares (MNCs) productivamente infectadas y sobre la carga viral asociada con FDCs en LT. La frecuencia de MNCs productivamente infectadas (A) y el número de copias de RNA de VIH – 1 sobre FDCs (B) fue graficado días después del tratamiento para 10 pacientes. En el curso de los primeros 22 días de tratamiento, cambios en los dos compartimentos celulares paralelos uno del otro con tasas de decaimiento rápida inicialmente y más lenta posteriormente (C y D) (Tomado de Cavert W et al, 1997).



**Figura 4.4.** Predicciones teóricas de la dinámica viral una vez aplicado tratamiento antirretroviral mediante el modelo multicompartmental. En los tres compartimentos se observa un decaimiento bifásico: rápido al inicio lento posteriormente. (A) Carga viral normalizada en plasma sanguíneo. (B) Carga viral en FDCs normalizada conforme al valor basal en plasma sanguíneo (C) Carga viral en LT normalizada al valor basal en plasma sanguíneo.



**Figura 4.5.** Aumento transitorio de la viremia una vez iniciada la terapia antirretroviral. Este incremento puede ser descrito principalmente por la diferencia en las magnitudes de tres parámetros  $c_B$  (A),  $k_{FL}$ , (B) y  $\delta_I$  (C).

A partir de la ecuación de la ecuación (34), se puede decir que para que haya un aumento de la viremia una vez que se aplica tratamiento antirretroviral se requiere que:

$$k_{LB}V_L - c_B V_B > 0$$

Esto implica que:

$$c_B < k_{LB} \frac{V_L}{V_B}$$

Si se considera que el sistema se encuentra en estado estacionario, se puede definir una cota superior para  $c_B$ . Por lo tanto, de la ecuación (36) se tiene:

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

Entonces:

$$c_B < k_{LB} \frac{k_{FL} V_F(0)}{k_{LF} V_B(0)}$$

En el caso en el que se da una disminución inicial de la viremia se obtiene una cota inferior para  $c_B$ . Esto es,

$$c_B > k_{LB} \frac{k_{FL} V_F(0)}{k_{LF} V_B(0)}$$

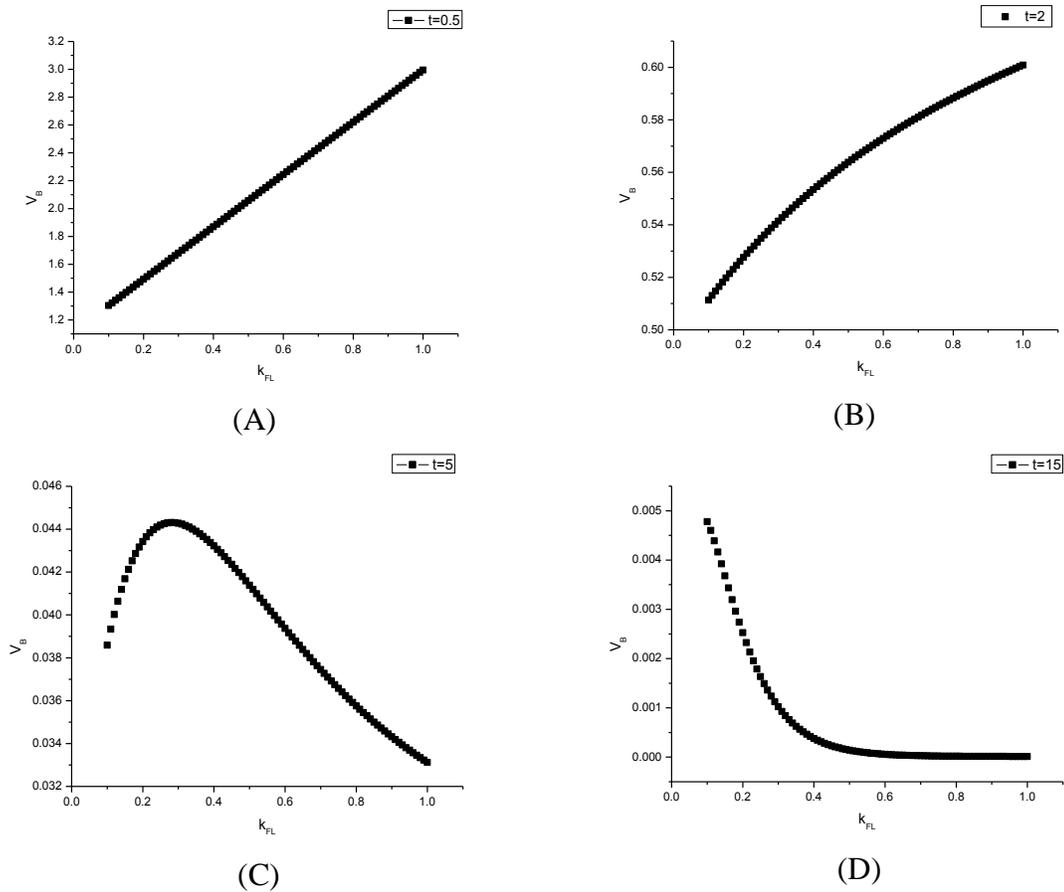
Esto sugiere, que para valores altos de  $c_B$  (por encima de una cota inferior) el incremento inicial de la carga viral desaparece. Mientras que para valores pequeños (por debajo de una cota superior) el aumento de la viremia se ve favorecido (figura 4.5.). Es interesante observar que el valor de  $c_B$ , queda determinado por los valores de las tasas de transferencia, por lo que los aumentos en la viremia se ven favorecidos cuando  $k_{LB}$  o  $k_{FL}$  son grandes (figura 4.5.).

No obstante, de que el aumento transitorio de la viremia puede ser reproducido cuando  $k_{LB}$  y  $k_{FL}$  son grandes. Las predicciones teóricas apuntan a que los parámetros que pueden contribuir a la eficacia del tratamiento son  $k_{FL}$  y  $\delta_I$ , ya que para valores altos de estos parámetros se generan picos de viremia en plasma a las primeras horas de tratamiento (figura 4.5.). Conforme avanzan los días de tratamiento los valores de estos parámetros van disminuyendo la carga viral (figura 4.6). Dicho en otras palabras, un aumento de  $k_{FL}$  o  $\delta_I$  es capaz de generar picos de viremia, de tal manera, que a picos altos de viremia le corresponden tasas de decaimiento más grandes a un plazo mayor.

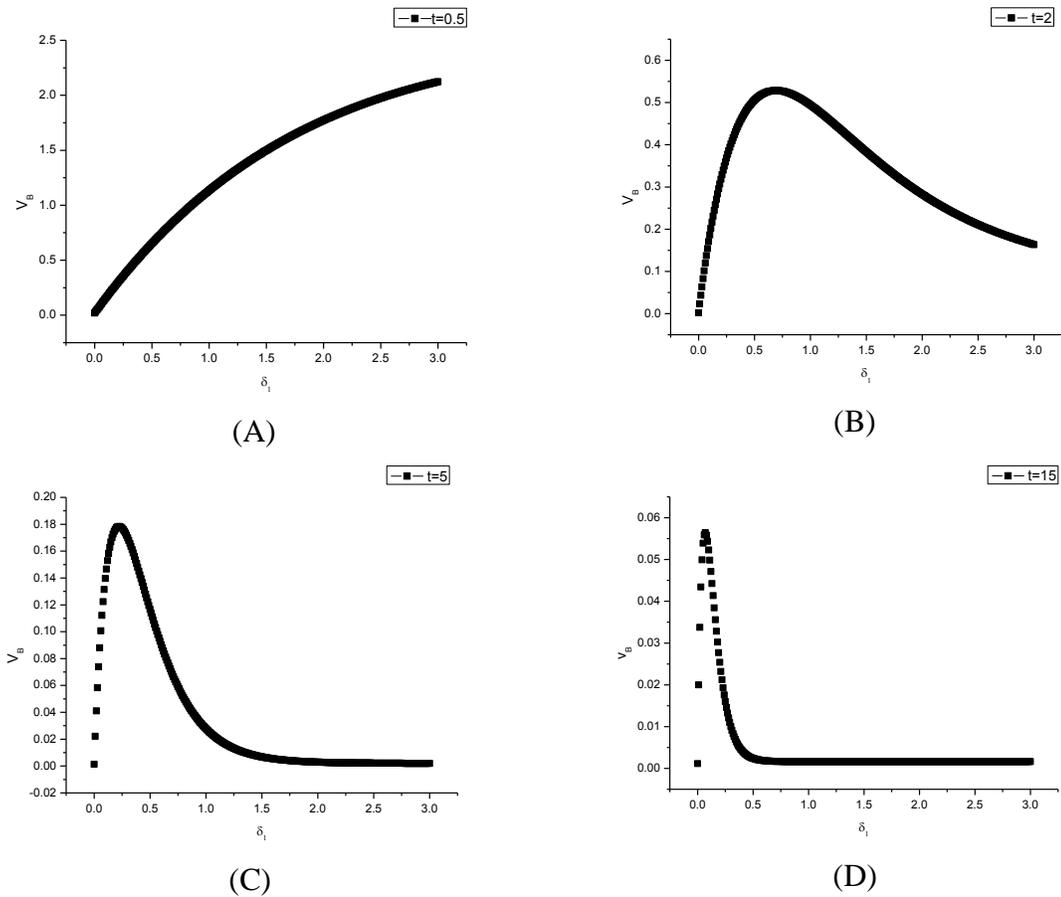
Los resultados anteriores se confirman haciendo el ejercicio numérico siguiente: primeramente se fija un valor del tiempo en la ecuación (50) (0.5, 2, 5, 20 días) y se procede a variar el valor de  $k_{FL}$  y  $\delta_I$  dando como resultado un comportamiento en el cual conforme crecen  $k_{FL}$  o  $\delta_I$  la carga viral aumenta en los primeros días de haber iniciado la terapia antirretroviral (0.5 y 2 días). Este comportamiento se invierte en los días posteriores (5 y 15 días), es decir, conforme aumenta  $k_{FL}$  o  $\delta_I$  la carga viral disminuye (figuras 4.6. y 4.7.).

Los valores relativos más altos de  $k_{FL}$  implican una redistribución de las partículas virales desde los reservorios de FDC's a plasma sanguíneo donde el virus puede ser

eliminado. Por lo tanto, estos resultados sugieren que un incremento temprano en la carga viral en plasma sanguíneo, asociado con un valor relativo alto de  $k_{FL}$  puede estar relacionado a una mejor prognosis.



**Figura 4.6.** Experimento numérico en el cual se fija un valor del tiempo 0.5 días (A), 2 días (B), 5 días (C), 15 días (D) y se varía  $k_{FL}$  de 0 a 1. Al inicio de la terapia la carga viral aumenta conforme se incrementa  $k_{FL}$ . Días después de la terapia este comportamiento se invierte, es decir, la carga viral disminuye conforme se aumenta  $k_{FL}$ .



**Figura 4.7.** Experimento numérico en el cual se fija un valor del tiempo 0.5 días (A), 2 días (B), 5 días (C), 15 días (D) y se varía  $\delta_I$  de 0 a 3. Al inicio de la terapia la carga viral aumenta conforme se incrementa  $\delta_I$ . Días después de la terapia este comportamiento se invierte, es decir, la carga viral disminuye conforme se aumenta  $\delta_I$ .

## 1.1. MATERIAL Y MÉTODOS

### 1.1.1. Población de pacientes y diseño del estudio

En este estudio participaron 6 pacientes (cuatro hombres y dos mujeres), previa aprobación mediante una carta de consentimiento informado (Apéndice I), con diagnóstico de VIH/SIDA confirmado por sus médicos tratantes basándose en la “Guía de manejo antirretroviral para las personas que viven con VIH/SIDA 2005-2006 de CENSIDA” (Apéndice II), correspondientes al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ). Los datos de estos pacientes fueron complementados con los de la viremia de 12 pacientes (todos hombres) del Hospital General para tener una estadística adecuada. La inclusión de los pacientes se llevo a cabo de manera independiente.

En el caso del INCMNSZ se adquirieron muestras de plasma sanguíneo de seis pacientes. Primero una muestra basal antes de la aplicación del tratamiento antirretroviral, posteriormente muestras cada hora durante las primeras 6 horas, luego muestras cada tres horas durante la próximas 18 horas, enseguida muestras cada 4 horas durante las subsiguientes 24 horas y finalmente muestras cada 48 horas en los 4 días siguientes (tabla 5.1.). En el caso del HG se siguió la misma estructura excepto que se tomó una muestra adicional en el muestreo de cada 4 horas pero una menos en el muestreo de cada 3 horas resultando el mismo número total de muestras (tabla 5.1.).

Muestreo	Periodo	Total de Muestras (INCMNSZ)	Total de Muestras (HG)
Una basal		1	1
Una cada hora	Las primeras 6 horas	6	6
Una cada tres horas	Las próximas 18 horas	6	5
Una cada 4 horas	Las próximas 24 horas	6	7
Una cada 48 horas	Las próximos 4 días	2	2
	<b>TOTAL DE MUESTRAS</b>	21	21

Los criterios de inclusión, no inclusión y eliminación fueron establecidos conjuntamente con el personal médico especializado que estuvo a cargo del manejo de los pacientes, previa aprobación de los protocolos por los Comités de Investigación y de Ética de las respectivas Instituciones, en apego a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (Apéndice 3), el Código Nuremberg, las Buenas Prácticas Clínicas y la Ley General de Salud.

### **1.1.2. Cuantificación de ARN viral en plasma**

La determinación de la carga viral para el VIH-1 se realizó con el estuche de pruebas COBAS Ampliprep/COBAS Tacman HIV-1 Test (Roche), que permite la amplificación de ácidos nucleicos para la cuantificación del ARN (ácido ribonucleico) del VIH-1 en plasma humano.

### **1.1.3. Conteo de linfocitos CD4**

El conteo de linfocitos CD4 se realiza por citometría de flujo con el equipo FACSCalibur. Multiset V2.2 Tritest Trocount (Becton Dickinson).

### **1.1.4. Genotipo viral**

A cada paciente que ingresó al estudio se le realizó un estudio de genotipo previo al inicio de HAART. Se utilizó la técnica de secuenciación de productos de PCR del gen de la polimerasa viral con el estuche de pruebas llamado Viroseq TM HIV-1 genotyping system versión 2.0 (Celera Diagnostics).

### **1.1.5. Análisis estadístico**

Se efectuaron ajustes estadísticos del comportamiento dependiente del tiempo de la carga viral normalizada en plasma sanguíneo después de HAART. La normalización fue obtenida en relación con la carga viral medida antes de HAART,  $V_B(0)$ . Los ajustes presentados fueron hechos aplicando el modelo multicompartimental siguiendo dos criterios, a saber:

- 1) Se tomaron en cuenta las condiciones estacionarias del sistema ajustando el modelo a los datos experimentales estimando de forma simultánea los parámetros  $Nk_T T_0$ ,  $Nk_M M_0$ ,  $\delta_1$  y  $\delta_2$ , manteniendo fijos los parámetros  $c_L$ ,  $k_{LF}$ ,  $k_{FL}$ ,  $k_{LB}$  y  $c_B$ .
- 2) Sin tomar en cuenta las condiciones estacionarias del sistema se estimaron simultáneamente los parámetros  $k_{FL}$ ,  $\delta_1$  y  $c_B$ , manteniendo fijo el parámetro  $\delta_2$  cuyo valor fue tomado del promedio estimado por el criterio 1) para todos los pacientes, además se fijaron  $c_L$  y  $k_{LF}$ .

Los ajustes presentados fueron realizados usando métodos no lineales de mínimos cuadrados para una primera estimación de los parámetros. Para efectuar los ajustes se empleó el software comercial Origin 8 The Data Analysis and Graphing Workspace que proporciona información del valor, el error estándar, los intervalos de confianza (en nuestro caso se tomaron intervalos de confianza al 68 %) de los parámetros a estimar.

## 1.1. RESULTADOS

Las características generales del protocolo del INCMNSZ sobre el género del paciente, número de CD4<sup>+</sup>, carga viral y número de linfocitos CD4<sup>+</sup> basales, modalidad y dosis del tratamiento se resumen en la tabla 5.2. En el caso del HG no se contó con esta información.

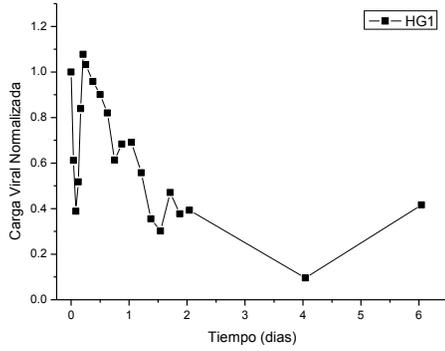
Tabla 5.2. Características generales del Protocolo (INCMNSZ).						
Número de paciente	Género	Edad (Años)	CD4 (cél/mm <sup>3</sup> ) para el protocolo	HAART	CV* Basal (copias/ml)	CD4 Basal (cél/mm <sup>3</sup> )
1	Masculino	33	> 250	A	10300	287
2	Femenino	43	> 250	A	32600	370
3	Masculino	27	< 250	A	2260	205
4	Masculino	29	> 250	B	71400	328
5	Femenino		< 250	A	445 000	52
6	Masculino		< 250	B	28800	231

**A = Emtricitabina/Tenofovir + Efavirenz**  
Dosis: Emtricitabina/Tenofovir: comprimidos de 200/300 mg. Un comprimido cada 24 hrs. Efavirenz: comprimidos de 600 mg. Tomar un comprimido cada 24 hrs.

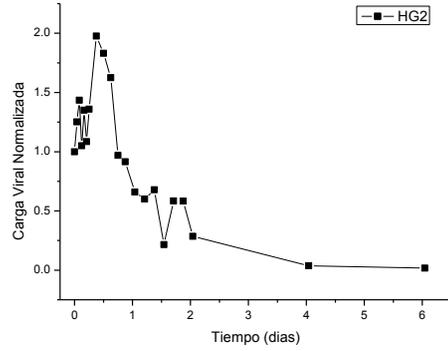
**B = Emtricitabina/Tenofovir + Atazanavir/Ritonavir**  
Dosis: Emtricitabina/Tenofovir: comprimidos de 200/300 mg. Un comprimido cada 24 hrs. Atazanavir/Ritonavir: comprimidos de 300/100 mg. Un comprimido cada 24 hrs.

Una vez procesadas las muestras se obtuvieron las cargas virales de cada uno de los pacientes participantes en el estudio, las cuales se muestran en las figuras 5.1 y 5.2 en el caso del Hospital General y en la figura 5.3 en el caso del INCMNSZ. Para los casos del Hospital General, se observa un aumento de la carga viral en sangre en las primeras 24 horas de haber aplicado la terapia antirretroviral en 10 de los 12 pacientes (figura 5.4). Todos estos incrementos son seguidos de las disminuciones bifásicas esperadas en la carga viral las cuales son correctamente descritas por los modelos matemáticos. Como casos excepcionales se tiene al paciente 8 que registró un aumento abrupto hasta la hora 41 y al paciente 11 que no manifestó ningún incremento. En el caso de los pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ) se observó un incremento de la carga viral en los seis pacientes en las primeras 12 horas de aplicar el tratamiento antirretroviral (figura 5.4).

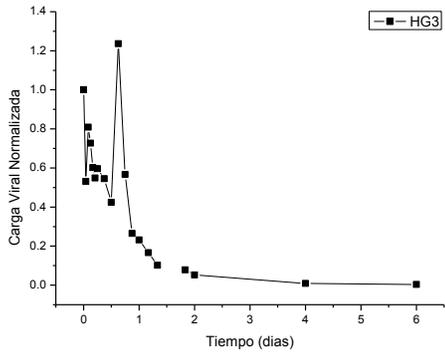
Puesto que nuestro modelo únicamente predice el incremento de la viremia a las primeras horas del tratamiento, para el caso del paciente 8 del HG no se logró ajustar el modelo, ya que, el máximo de aumento transitorio lo manifestó a la hora 41. No obstante, para estimar los valores de los parámetros de este paciente se excluyó el punto de máxima carga viral y se procedió a realizar el ajuste.



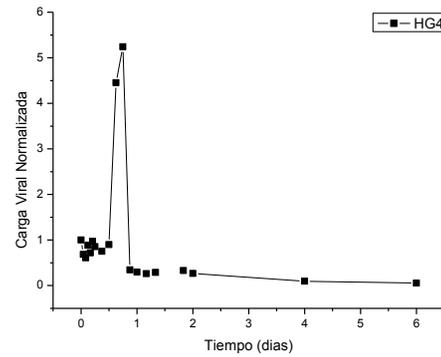
A)



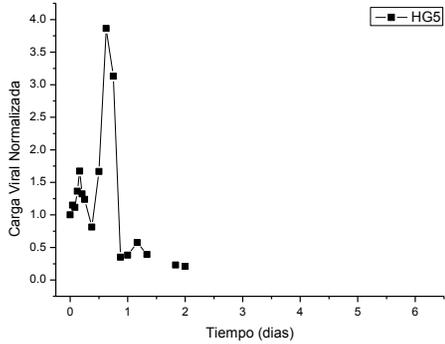
B)



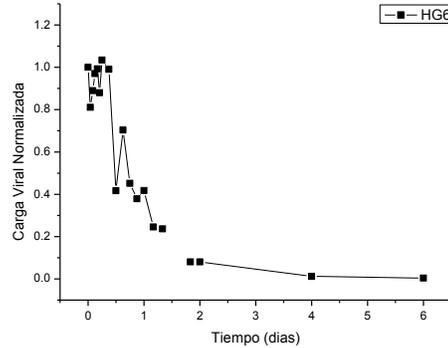
C)



D)

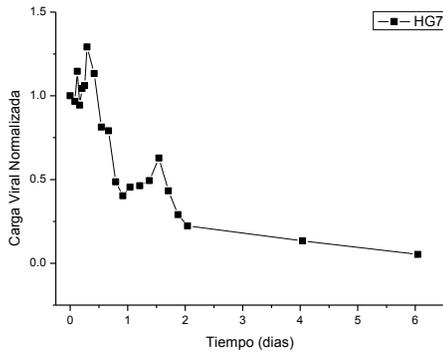


E)

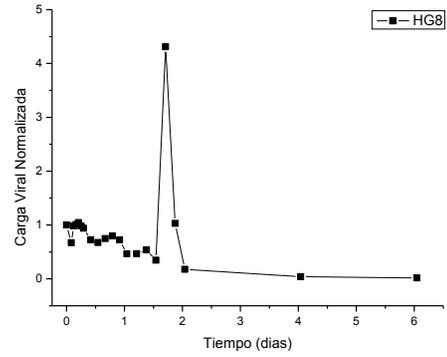


F)

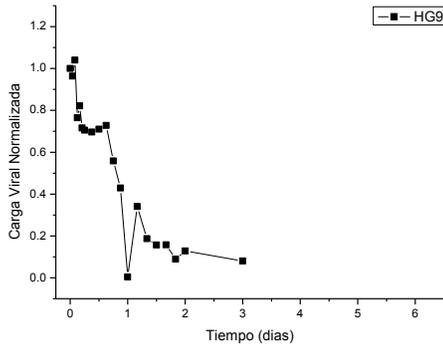
**Figura 5.1.** Dinámica viral de los pacientes HG1 – HG6 (A - F) del Hospital General una vez aplicado tratamiento antirretroviral. Las gráficas muestran carga viral normalizada versus tiempo en días. Los datos de la mayoría de los pacientes muestran un comportamiento oscilatorio de la carga viral al inicio de la terapia antirretroviral destacando un incremento de la viremia en las primeras horas de iniciado el tratamiento, seguido de un decaimiento bifásico (rápido al principio y lento al final).



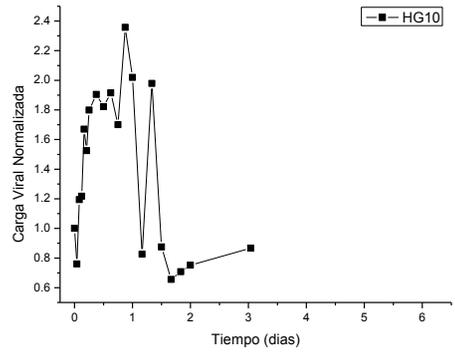
G)



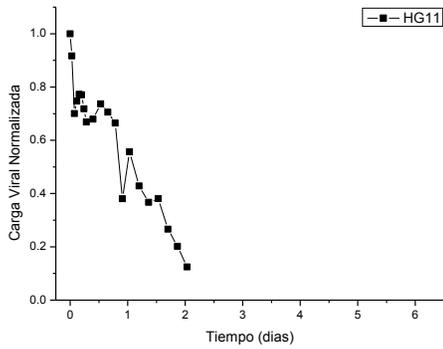
H)



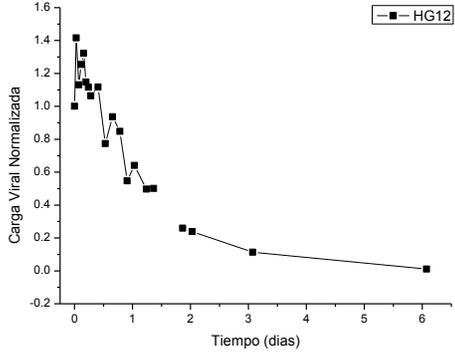
I)



J)

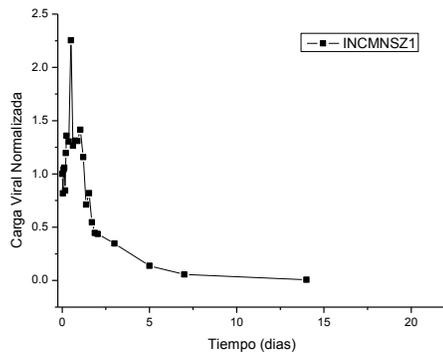


(K)

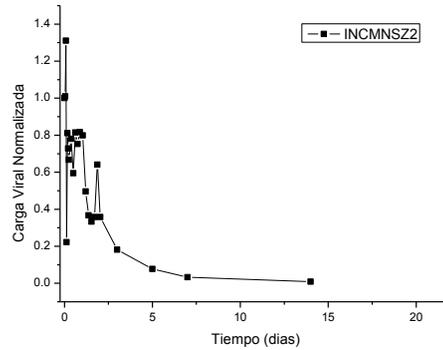


(L)

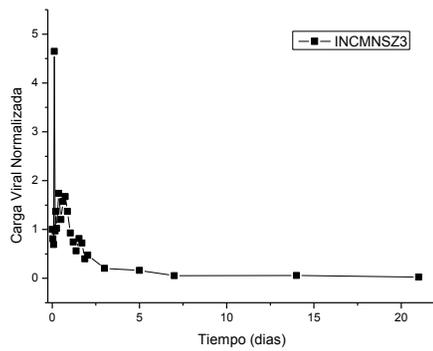
**Figura 5.2.** Dinámica viral de los pacientes HG7 – HG12 (G - L) del Hospital General una vez aplicado tratamiento antirretroviral. Las gráficas muestran carga viral normalizada versus tiempo en días. Los datos de la mayoría de los pacientes muestran un comportamiento oscilatorio de la carga viral al inicio de la terapia antirretroviral destacando un incremento de la viremia en las primeras horas de iniciado el tratamiento, seguido de un decaimiento bifásico (rápido al principio y lento al final).



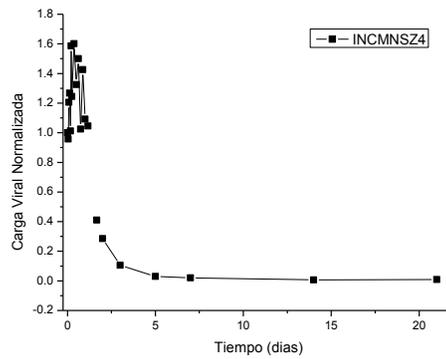
A)



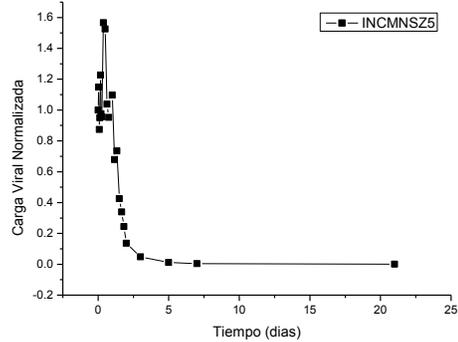
B)



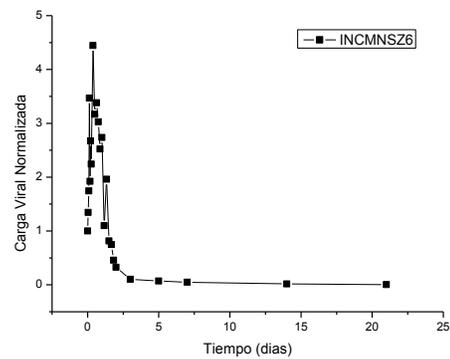
C)



D)

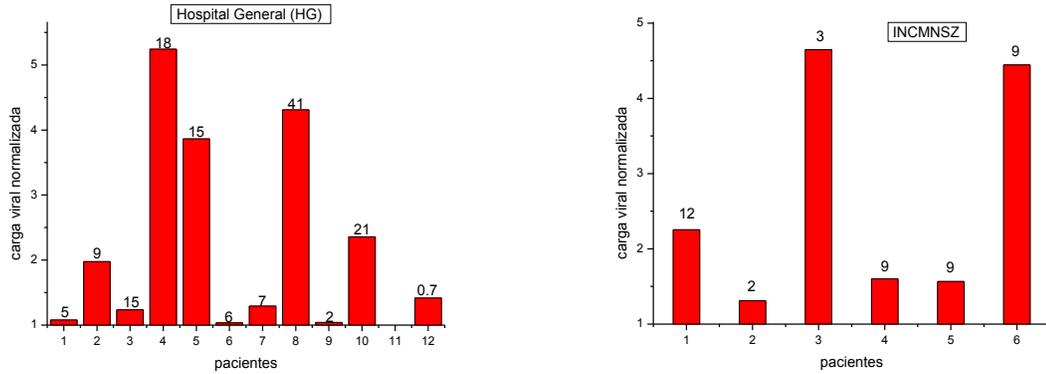


E)



F)

**Figura 5.3.** Dinámica viral de los pacientes INCMNSZ1 – INCMNSZ4 (A - D) del Instituto Nacional de Nutrición una vez aplicado tratamiento antirretroviral. Las gráficas muestran carga viral normalizada versus tiempo en días. Los datos de la mayoría de los pacientes muestran un comportamiento oscilatorio de la carga viral al inicio de la terapia antirretroviral destacando un incremento de la viremia en las primeras horas de iniciado el tratamiento, seguido de un decaimiento bifásico (rápido al principio y lento al final).



A)

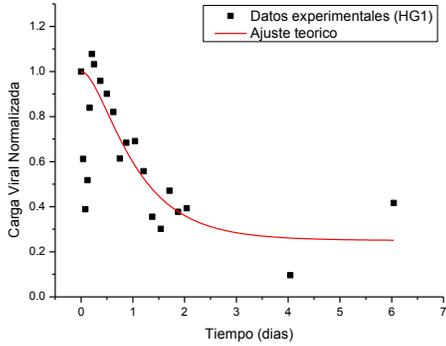
B)

**Figura 5.4.** Máximos incrementos registrados en la carga viral en pacientes del Hospital General (A) y pacientes del Instituto Nacional de Ciencia Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (B) una vez iniciada la terapia antirretroviral. El número encima de la barra indica el tiempo en horas en que se registró el máximo aumento de la viremia. Para el caso de HG se registraron incrementos significativos en 10 de los 12 pacientes, mientras que en INCMNSZ todos los pacientes manifestaron el aumento.

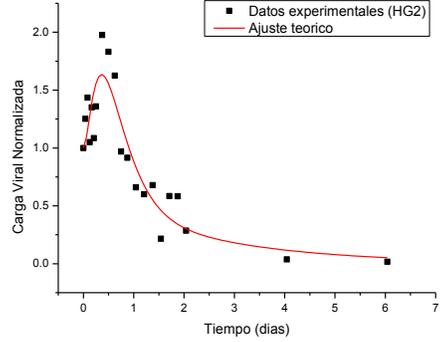
Los ajustes por mínimos cuadrados de los pacientes del HG correspondientes al criterio 1) se muestran en las figuras 5.5 y 5.6. Los valores estimados para  $Nk_T T_0$ , van desde  $0.9 \text{ d}^{-1}$  hasta  $11.4 \pm 4.9 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $4.7 \pm 3.8 \text{ d}^{-1}$ . Los valores concernientes  $Nk_M M_0$  oscilan entre  $0.00$  y  $1.60 \pm 3.55 \text{ d}^{-1}$ , con un promedio  $0.65 \pm 0.64 \text{ d}^{-1}$ . Los valores de  $\delta_I$ , fluctúan entre  $0.57 \text{ d}^{-1}$  y  $4.00 \pm 2.78 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $1.99 \pm 1.11 \text{ d}^{-1}$  mientras que los valores de  $\delta_2$  van desde  $0.00$  a  $0.84 \pm 5.60 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $0.22 \pm 0.30 \text{ d}^{-1}$ . (tabla 5.3). En el caso del INCMNSZ, (figura 5.7) los valores concernientes a  $Nk_T T_0$  van desde  $1.65$  a  $16.71 \pm 105.20 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $7.72 \pm 4.99 \text{ d}^{-1}$ . Los valores estimados para  $Nk_M M_0$  oscilan entre  $0.00 \pm 0.42$  y  $10.00 \pm 109.74$  con un promedio de  $2.06 \pm 3.94$ . Los valores de  $\delta_I$ , fluctúan entre  $0.38 \text{ d}^{-1}$  y  $3.52 \pm 12.55 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $1.80 \pm 1.20 \text{ d}^{-1}$  mientras que los valores de  $\delta_2$  van desde  $0.00$  a  $1.58 \pm 6.23 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $0.40 \pm 0.59 \text{ d}^{-1}$  (tabla 5.3)

Tabla 5.3. Valores de los parámetros estimados mediante el criterio 1)*.									
HOSPITAL GENERAL	N <sub>k<sub>T</sub>T<sub>0</sub></sub>		N <sub>k<sub>T</sub>M<sub>0</sub></sub>		δ <sub>1</sub>		δ <sub>2</sub>		
Paciente	Valor (d <sup>-1</sup> ) ± SE	Intervalo de confianza	Valor (d <sup>-1</sup> ) ± SE	Intervalo de confianza	Valor (d <sup>-1</sup> ) ± SE	Intervalo de confianza	Valor (d <sup>-1</sup> ) ± SE	Intervalo de confianza	R <sup>2</sup>
HG1	1.9 ± 0.9	1.0 - 2.8	0.72 ± 0.49	0.22 - 1.23	1.27 ± 1.28	-0.04 - 2.58	0.00	--	0.2946
HG2	8.7 ± 2.2	6.5 - 11.0	1.37 ± 2.15	-0.84 - 3.57	3.39 ± 2.00	1.35 - 5.44	0.41 ± 0.82	-0.43 - 1.24	0.8265
HG3	1.2 ± 1.0	0.2 - 2.2	0.00	--	1.01 ± 1.48	-0.51 - 2.53	0.00	--	0.3769
HG4	9.8 ± 6.1	3.6 - 16.1	0.00 ± 5.78	-5.94 - 5.94	1.56 ± 1.50	0.02 - 3.10	0.00	--	0.0566
HG5	11.4 ± 4.9	6.3 - 16.6	0.00	--	2.15 ± 1.30	0.80 - 3.50	0.01	--	0.2012
HG6	2.3 ± 5.4	-3.2 - 7.8	0.57 ± 5.94	-5.54 - 6.68	3.00 ± 7.45	-4.66 - 10.66	0.84 ± 5.60	-4.92 - 6.59	0.9077
HG7	3.6 ± 1.1	2.5 - 4.8	1.21 ± 0.66	0.54 - 1.89	4.00 ± 2.78	1.15 - 6.85	0.26 ± 0.27	-0.01 - 0.54	0.8750
HG8	2.6 ± 0.4	2.2 - 3.0	0.00	--	0.84 ± 0.24	0.60 - 1.09	0.00	--	
HG9	1.6 ± 0.6	0.9 - 2.2	0.08 ± 0.81	-0.75 - 0.91	1.46 ± 1.89	-0.48 - 3.40	0.00 ± 2.67	-2.74 - 2.74	0.8624
HG10	8.8 ± 6.0	2.7 - 15.0	1.48 ± 7.28	-6.00 - 8.95	1.64 ± 2.11	-0.52 - 3.80	0.00 ± 1.82	-1.87 - 1.87	0.5946
HG11	0.9	--	0.74	--	0.57	--	0.57	--	0.6913
HG12	3.7 ± 3.0	0.6 - 6.8	1.60 ± 3.55	-2.03 - 5.24	3.00 ± 4.05	-1.16 - 7.16	0.56 ± 1.12	-0.58 - 1.71	0.8629
<b>PROMEDIO</b>	<b>4.7</b>		<b>0.65</b>		<b>1.99</b>		<b>0.22</b>		
<b>SD</b>	<b>3.8</b>		<b>0.64</b>		<b>1.11</b>		<b>0.30</b>		
INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN	N <sub>k<sub>T</sub>T<sub>0</sub></sub>		N <sub>k<sub>T</sub>M<sub>0</sub></sub>		δ <sub>1</sub>		δ <sub>2</sub>		
Paiente	Valor ± SE	Intervalo de confianza	Valor ± SE	Intervalo de confianza	Valor ± SE	Intervalo de confianza	Valor ± SE	Intervalo de confianza	R <sup>2</sup>
INCMNSZ1	6.52 ± 1.47	5.01 - 8.02	0.33 ± 1.64	-1.35 - 2.01	1.16 ± 0.55	0.60 - 1.72	0.09 ± 0.79	-0.71 - 0.90	0.8078
INCMNSZ2	1.65	--	0.31	--	0.38	--	0.38	--	0.5578
INCMNSZ3	8.79 ± 6.19	2.47 - 15.10	1.72 ± 5.53	-3.92 - 7.37	3.00 ± 5.14	-2.24 - 8.24	0.30 ± 1.34	-1.07 - 1.67	0.2816
INCMNSZ4	6.94 ± 0.64	6.29 - 7.59	0.01 ± 0.21	-0.20 - 0.23	1.35 ± 0.25	1.10 - 1.61	0.00	--	0.9298
INCMNSZ5	5.74 ± 0.69	5.03 - 6.45	0.00 ± 0.42	-0.42 - 0.42	1.42 ± 0.38	1.03 - 1.80	0.07	--	0.8849
INCMNSZ6	16.71 ± 105.20	-90.57 - 123.99	10.00 ± 109.74	-101.92 - 121.92	3.52 ± 12.55	-9.29 - 16.31	1.58 ± 6.23	-4.78 - 7.93	0.8461
<b>PROMEDIO</b>	<b>7.72</b>		<b>2.06</b>		<b>1.80</b>		<b>0.40</b>		
<b>SD</b>	<b>4.99</b>		<b>3.94</b>		<b>1.20</b>		<b>0.59</b>		

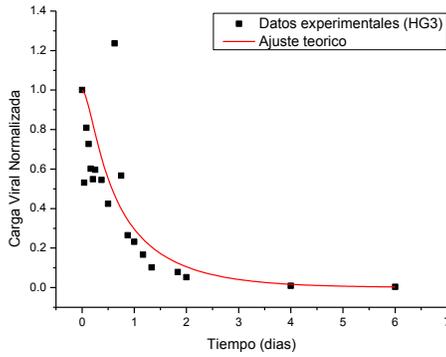
\* Véase sección 5.2.5.



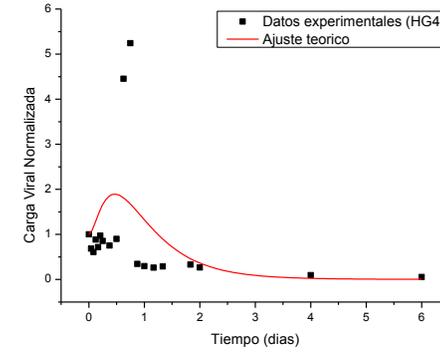
A)



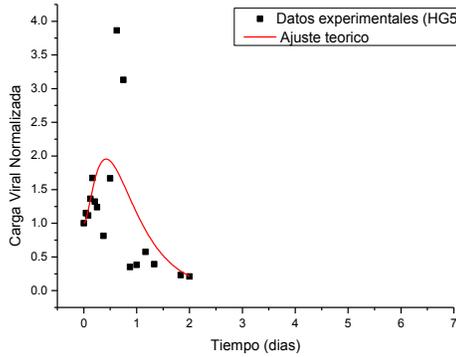
B)



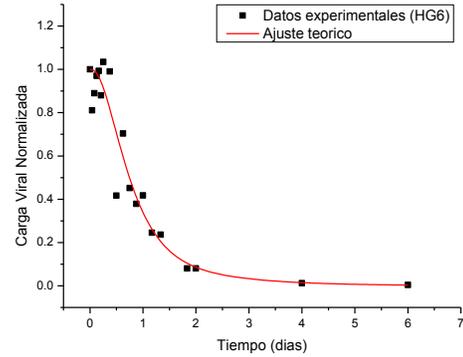
C)



D)

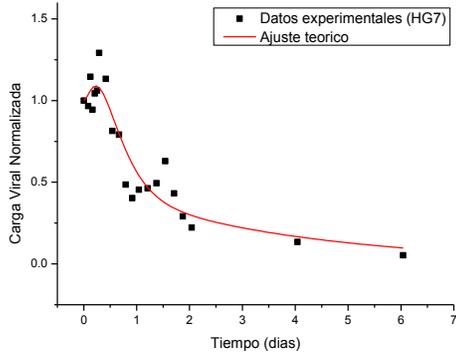


E)

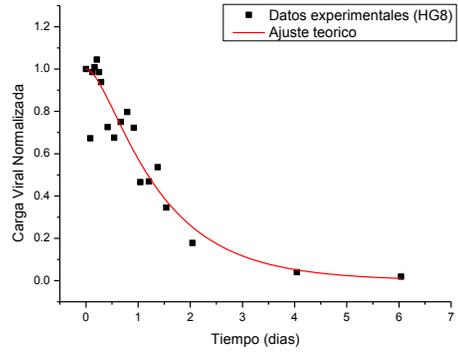


F)

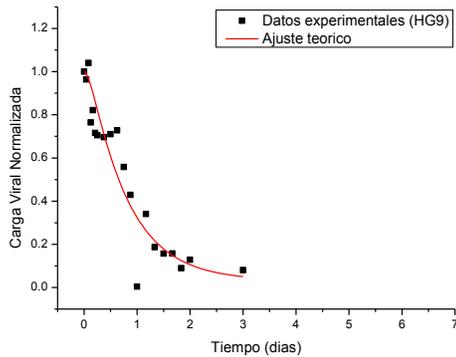
**Figura 5.5.** Comparación de los ajustes teóricos (línea roja) con los datos experimentales de los pacientes HG1 – HG6 (A - F) una vez aplicada terapia antirretroviral en base al criterio 1). Aquí se estimaron simultáneamente los parámetros  $Nk_T T_0$ ,  $Nk_M M_0$ ,  $\delta_1$  y  $\delta_2$ . Los valores de los parámetros fijos son:  $c_B = 10$ ,  $c_L = 2.4$ ,  $k_{LB} = 0.5$ ,  $k_{LF} = 0.06$  y  $k_{FL} = 0.6$ . Las gráficas muestran la carga viral normalizada respecto al valor basal versus el tiempo en días durante la aplicación de la terapia. En la mayoría de los pacientes se observa un incremento en la viremia a las primeras horas de haber iniciado la terapia antirretroviral.



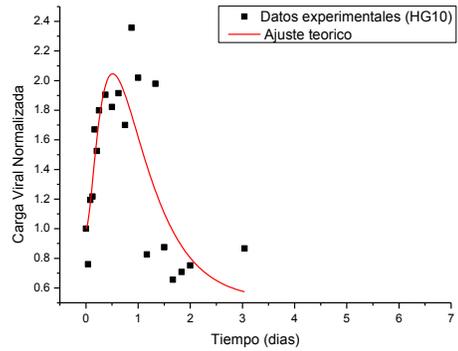
G)



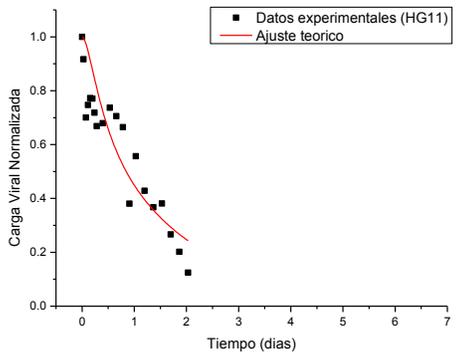
H)



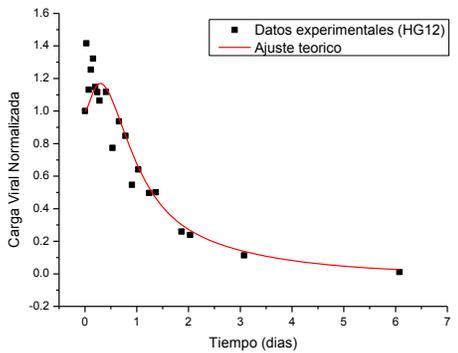
I)



J)

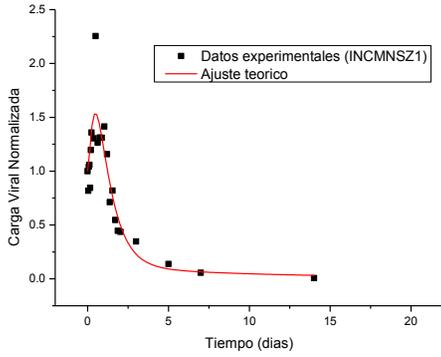


K)

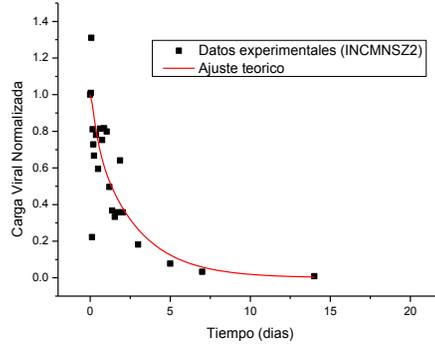


L)

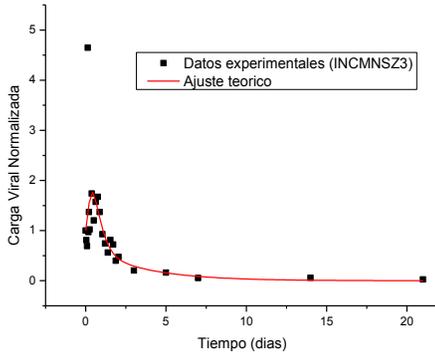
**Figura 5.6.** Comparación de los ajustes teóricos (línea roja) con los datos experimentales de los pacientes (puntos) HG7 – HG12 (G - L) una vez aplicada terapia antirretroviral en base al criterio 1). Aquí se estimaron simultáneamente los parámetros  $Nk_T T_0$ ,  $Nk_M M_0$ ,  $\delta_1$  y  $\delta_2$ . Los valores de los parámetros fijos son:  $c_B = 10$ ,  $c_L = 2.4$ ,  $k_{LB} = 0.5$ ,  $k_{LF} = 0.06$  y  $k_{FL} = 0.6$ . Las gráficas muestran la carga viral normalizada respecto al valor basal versus el tiempo de aplicación de la terapia en días. En la mayoría de los pacientes se observa un incremento en la viremia a las primeras horas de haber iniciado la terapia antirretroviral para posteriormente decaer en dos fases: una rápida y una lenta.



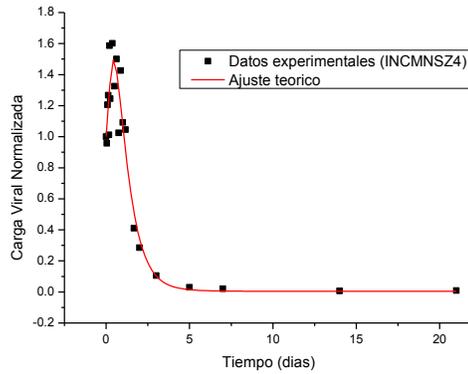
A)



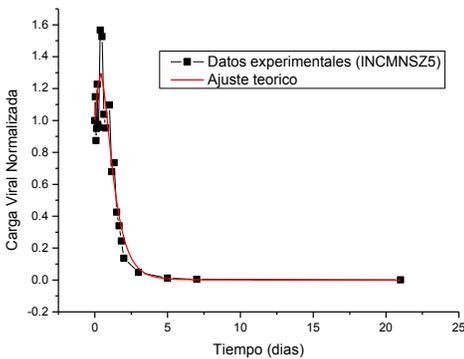
B)



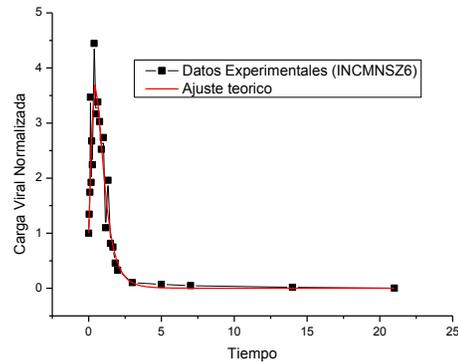
C)



D)



E)



F)

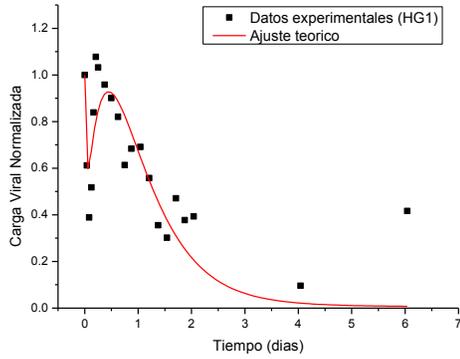
**Figura 5.7.** Comparación de los ajustes teóricos (línea roja) con los datos experimentales de los pacientes (puntos) INCMNSZ1 – INCMNSZ6 (A - F) una vez aplicada terapia antirretroviral en base al criterio 1). Aquí se estimaron simultáneamente los parámetros  $Nk_T T_0$ ,  $Nk_M M_0$ ,  $\delta_1$  y  $\delta_2$ . Los valores de los parámetros fijos son:  $c_B = 10$ ,  $c_L = 2.4$ ,  $k_{LB} = 0.5$ ,  $k_{LF} = 0.06$  y  $k_{FL} = 0.6$ . Las gráficas muestran la carga viral normalizada respecto al valor basal versus el tiempo de aplicación de la terapia en días. En la mayoría de los pacientes se observa un incremento en la viremia a las primeras horas de haber iniciado la terapia antirretroviral para posteriormente decaer en dos fases: una rápida y una lenta.

Los ajustes por mínimos cuadrados de los pacientes del HG correspondientes al criterio 2) se muestran en las figuras 5.8 y 5.9. Los valores correspondientes a  $k_{FL}$  van desde  $0.00 \pm 0.00 \text{ d}^{-1}$  a  $0.95 \pm 0.49 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $0.40 \pm 0.30 \text{ d}^{-1}$ . Para el caso de

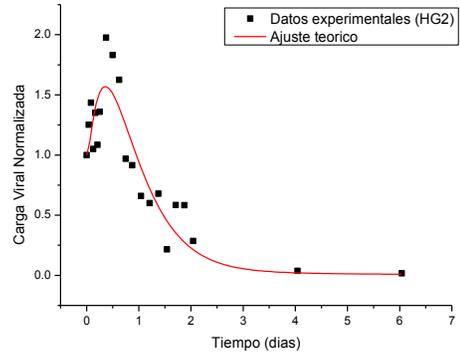
$\delta_I$ , los valores varían de  $0.39 \pm 0.95 \text{ d}^{-1}$  a  $3.48 \pm 0.90 \text{ d}^{-1}$  con un valor promedio de  $1.63 \pm 0.83 \text{ d}^{-1}$ , mientras que los valores pertenecientes a  $c_B$  oscilan de  $2.05 \pm 1.26 \text{ d}^{-1}$  a  $91.51 \pm 16.82 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $41.07 \pm 29.05 \text{ d}^{-1}$  (tabla 5.4). En lo correspondiente a los pacientes del INCMNSZ (figura 5.10), los valores de  $k_{FL}$  oscilan de  $0.00 \pm 0.00 \text{ d}^{-1}$  a  $0.39 \pm 0.19 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $0.18 \pm 0.13$ . Los valores de  $\delta_I$  fluctúan de  $0.44 \pm 0.18 \text{ d}^{-1}$  a  $2.32 \pm 0.63 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $1.33 \pm 0.65 \text{ d}^{-1}$  mientras que los valores de  $c_B$  van desde  $9.74 \pm 1.05 \text{ d}^{-1}$  a  $22.92 \pm 1.88 \text{ d}^{-1}$  con un promedio de  $17.85 \pm 5.67 \text{ d}^{-1}$  (tabla 5.4).

Tabla 5.4. Valores estimados de los parámetros mediante el criterio 2)*								
HOSPITAL GENERAL		$k_{FL}$		$\delta_1$		$c_B$		
Paciente	Valor basal	Value ( $d^{-1}$ ) $\pm$ SE	Intervalo de confianza	Value ( $d^{-1}$ ) $\pm$ SE	Intervalo de confianza	Value ( $d^{-1}$ ) $\pm$ SE	Intervalo de confianza	$R^2$
HG1	70.28	0.15 $\pm$ 0.06	0.09 - 0.21	1.45 $\pm$ 0.34	1.11 - 1.80	35.08 $\pm$ 4.03	30.95 - 39.20	0.6166
HG2	186.4	0.27 $\pm$ 0.07	0.19 - 0.34	1.92 $\pm$ 0.45	1.46 - 2.38	27.28 $\pm$ 2.90	24.32 - 30.25	0.8093
HG3	3973	0.41 $\pm$ 0.21	0.19 - 0.62	2.27 $\pm$ 1.28	0.95 - 3.58	77.46 $\pm$ 19.78	57.16 - 97.76	0.6563
HG4	318.9	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 - 0.00	1.84 $\pm$ 1.27	0.54 - 3.15	14.44 $\pm$ 8.50	5.71 - 23.17	0.1882
HG5	475.1	0.09 $\pm$ 0.20	-0.11 - 0.29	2.40 $\pm$ 1.54	0.82 - 3.99	19.93 $\pm$ 5.30	14.46 - 25.39	0.2506
HG6	5106	0.64 $\pm$ 0.15	0.49 - 0.80	3.48 $\pm$ 0.90	2.55 - 4.40	82.26 $\pm$ 9.86	72.14 - 92.37	0.9280
HG7	5057	0.95 $\pm$ 0.49	0.44 - 1.46	0.39 $\pm$ 0.95	-0.58 - 1.36	2.05 $\pm$ 1.26	0.76 - 3.34	0.8563
HG8	608.4	0.36 $\pm$ 0.06	0.30 - 0.41	1.15 $\pm$ 0.29	0.85 - 1.45	41.67 $\pm$ 4.92	36.62 - 46.73	0.8969
HG9	1050	0.86 $\pm$ 0.20	0.65 - 1.06	1.64 $\pm$ 0.65	0.98 - 2.31	91.51 $\pm$ 16.82	74.29 - 108.74	0.8850
HG10	560.4	0.13 $\pm$ 0.04	0.09 - 0.18	1.06 $\pm$ 0.26	0.79 - 1.32	13.11 $\pm$ 1.48	11.59 - 14.63	0.5819
HG11	2614	0.34 $\pm$ 0.04	0.30 - 0.38	1.01 $\pm$ 0.17	0.84 - 1.18	46.87 $\pm$ 4.01	42.76 - 50.98	0.9177
HG12	906	0.56 $\pm$ 0.07	0.49 - 0.63	0.96 $\pm$ 0.23	0.72 - 1.19	41.15 $\pm$ 5.09	35.94 - 46.36	0.9509
<b>PROMEDIO</b>	<b>1743.79</b>	<b>0.40</b>		<b>1.63</b>		<b>41.07</b>		
<b>SD</b>	<b>1,924.65</b>	<b>0.30</b>		<b>0.83</b>		<b>29.05</b>		
INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN		$k_{FL}$		$\delta_1$		$c_B$		
Paciente	Carga viral basal (copias/ml)	Value ( $d^{-1}$ ) $\pm$ SE	Intervalo de confianza	Value ( $d^{-1}$ ) $\pm$ SE	Intervalo de confianza	Value ( $d^{-1}$ ) $\pm$ SE	Intervalo de confianza	$R^2$
INCMNSZ1	71400	0.11 $\pm$ 0.04	0.07 - 0.14	1.32 $\pm$ 0.22	1.10 - 1.54	18.36 $\pm$ 1.42	16.90 - 19.81	0.8426
INCMNSZ2	10300	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 - 0.00	0.44 $\pm$ 0.18	0.20 - 0.51	12.06 $\pm$ 4.87	5.98 - 15.41	0.2323
INCMNSZ3	2260	0.39 $\pm$ 0.19	0.19 - 0.58	0.86 $\pm$ 0.88	-0.04 - 1.76	21.35 $\pm$ 10.36	10.80 - 31.91	0.3694
INCMNSZ4	32600	0.21 $\pm$ 0.03	0.18 - 0.25	1.39 $\pm$ 0.24	1.14 - 1.63	22.92 $\pm$ 1.88	21.00 - 24.84	0.9340
INCMNSZ5	445000	0.16 $\pm$ 0.04	0.12 - 0.20	1.68 $\pm$ 0.28	1.39 - 1.97	22.69 $\pm$ 1.84	20.81 - 24.87	0.8990
INCMNSZ6	28800	0.18 $\pm$ 0.07	0.11 - 0.26	2.32 $\pm$ 0.63	1.68 - 2.95	9.74 $\pm$ 1.05	8.67 - 10.81	0.8017
<b>PROMEDIO</b>	<b>98393</b>	<b>0.18</b>		<b>1.33</b>		<b>17.85</b>		
<b>SD</b>	<b>171486</b>	<b>0.13</b>		<b>0.65</b>		<b>5.67</b>		

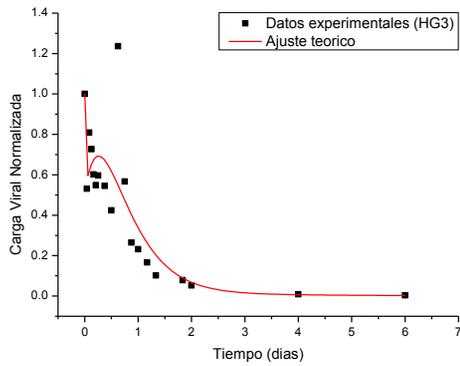
\*Véase sección 5.2.5.



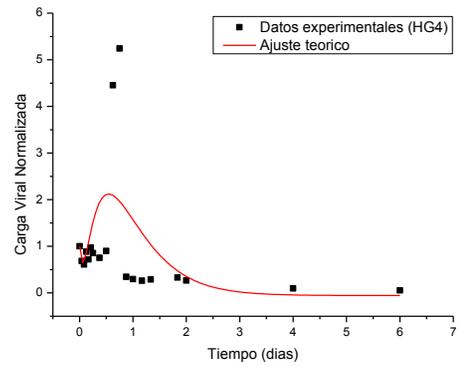
A)



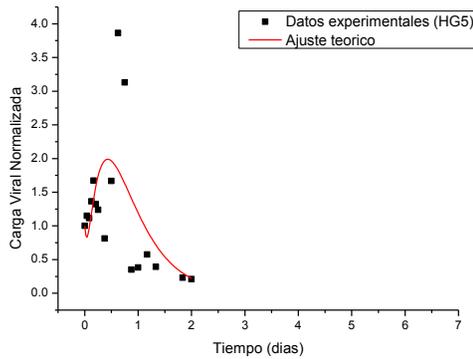
B)



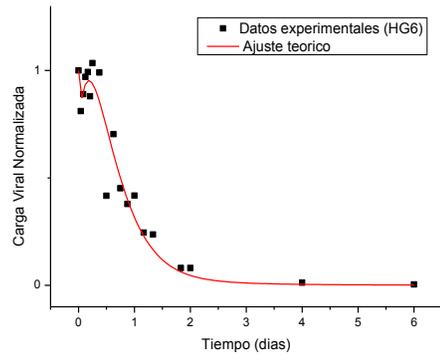
C)



D)

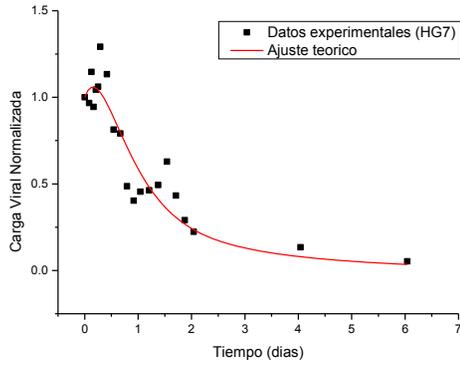


E)

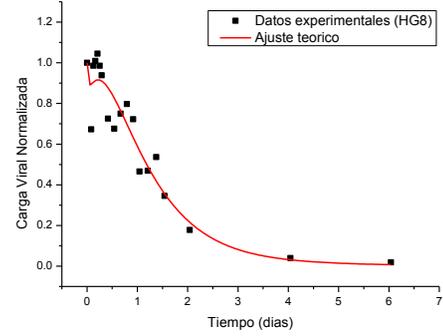


F)

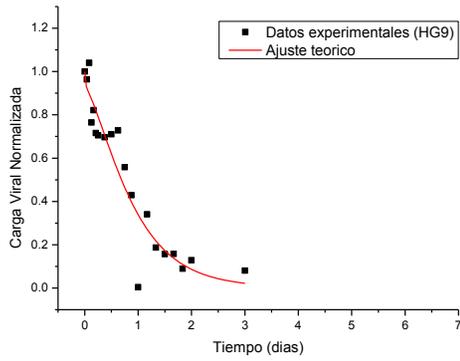
**Figura 5.8.** Comparación de los ajustes teóricos (línea roja) con los datos experimentales (puntos) de los pacientes HG1 – HG6 (A - F) una vez aplicada terapia antirretroviral en base al criterio 2). Aquí se estimaron simultáneamente los parámetros  $k_{FL}$ ,  $\delta_1$  y  $c_B$ . Los valores de los parámetros fijos son:  $c_L = 2.4$ ,  $k_{LF} = 0.06$ ,  $k_{LB} = 0.006$  y  $\delta_2 = 0.22$ . Las gráficas muestran la carga viral normalizada respecto al valor basal versus tiempo de aplicación de la terapia en días. En la mayoría de los pacientes se observa un incremento en la viremia a las primeras horas de haber iniciado la terapia antirretroviral para posteriormente decaer en dos fases: una rápida y una lenta.



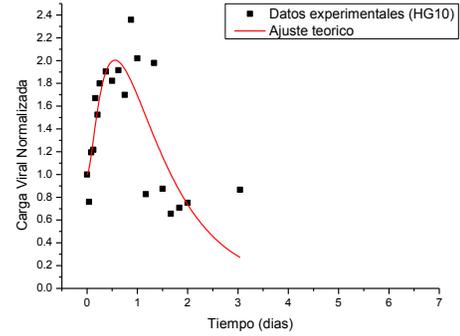
G)



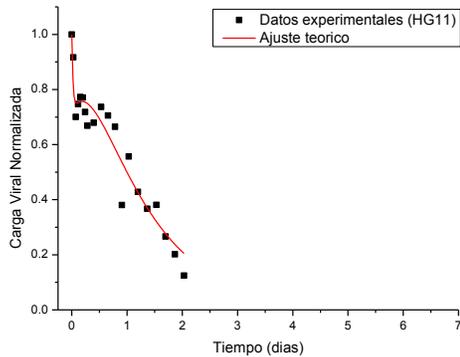
H)



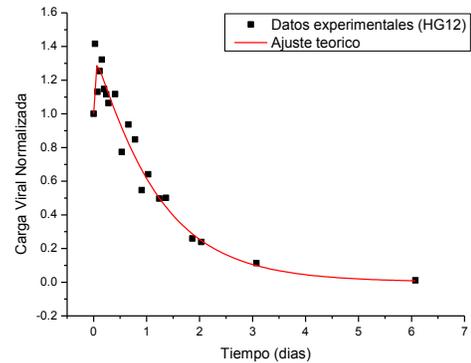
I)



J)

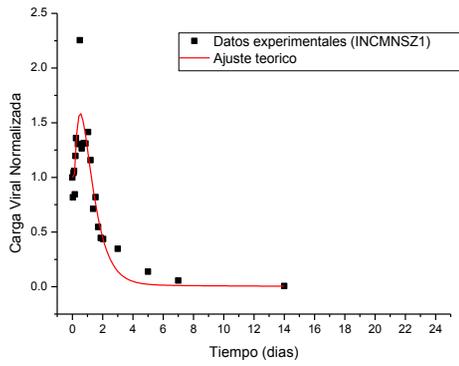


K)

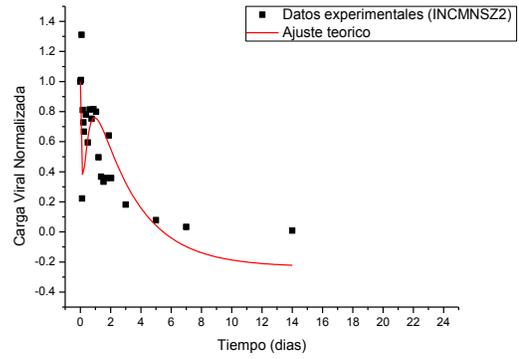


L)

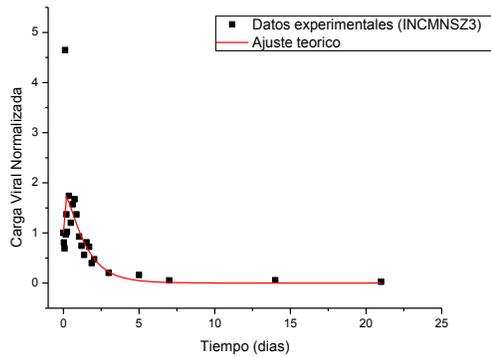
**Figura 5.9.** Comparación de los ajustes teóricos (línea roja) con los datos experimentales (puntos) de los pacientes HG7 – HG12 (G - H) una vez aplicada terapia antirretroviral en base al criterio 2). Aquí se estimaron simultáneamente los parámetros  $k_{FL}$ ,  $\delta_1$  y  $c_B$ . Los valores de los parámetros fijos son:  $c_L=2.4$ ,  $k_{LF}=0.06$ ,  $k_{LB}=0.006$  y  $\delta_2=0.22$ . Las gráficas muestran la carga viral normalizada respecto al valor basal versus tiempo de aplicación de la terapia en días. En la mayoría de los pacientes se observa un incremento en la viremia a las primeras horas de haber iniciado la terapia antirretroviral para posteriormente decaer en dos fases: una rápida y una lenta.



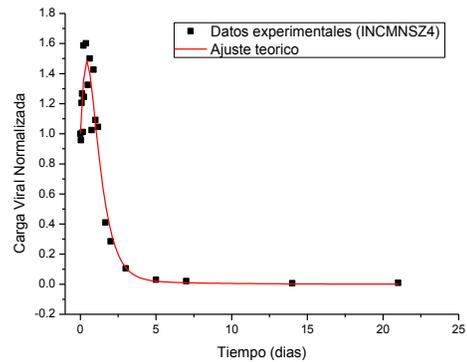
A)



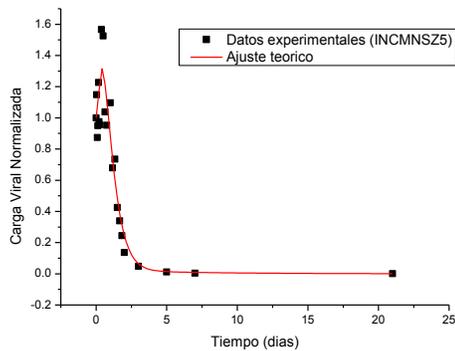
B)



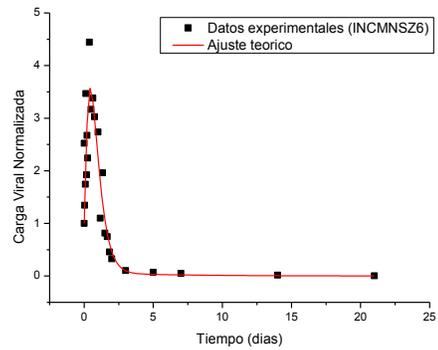
C)



D)



E)

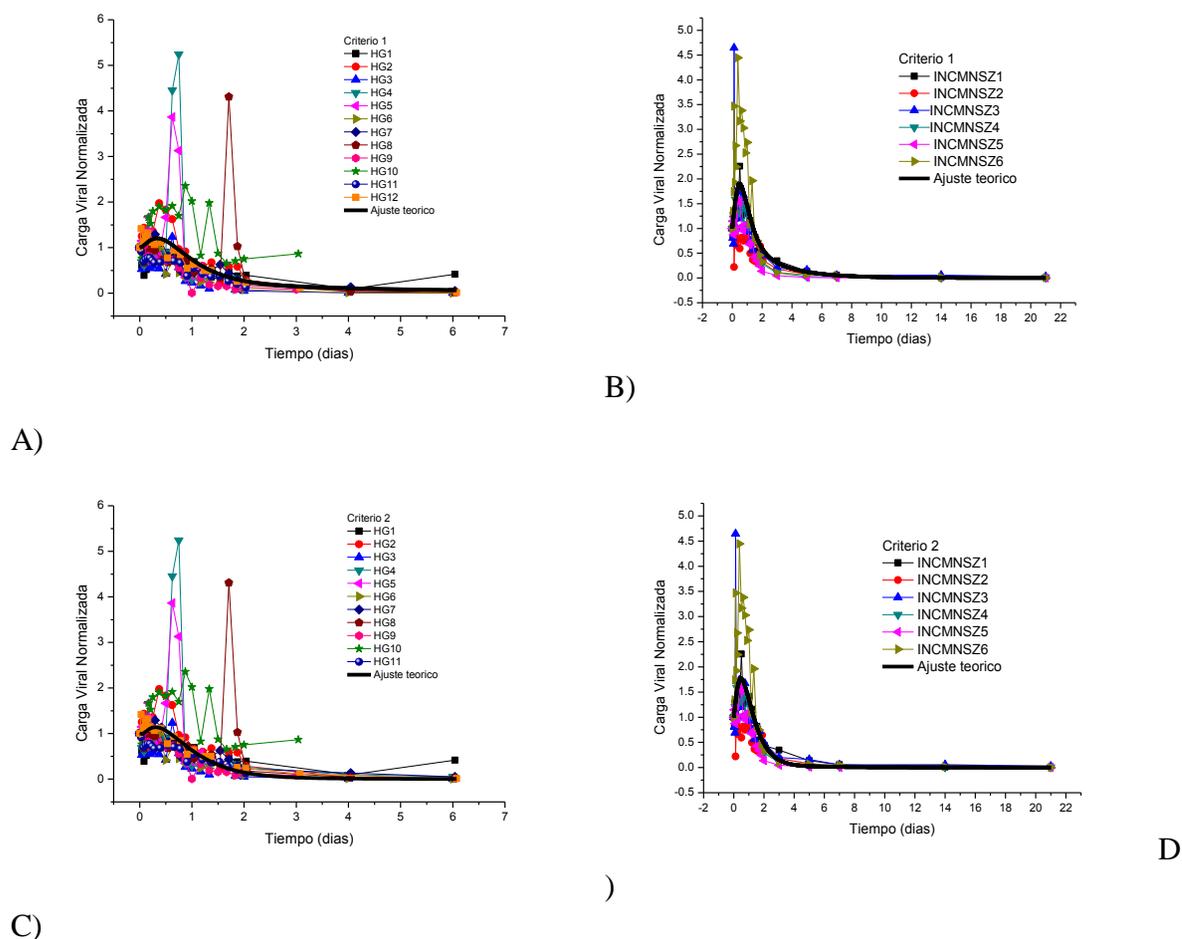


F)

**Figura 5.10.** Comparación de los ajustes teóricos (línea roja) con los datos experimentales (puntos) de los pacientes INCMNSZ1 – INCMNSZ 6 (A - F) una vez aplicada la terapia antirretroviral en base al criterio 2). Aquí se estimaron simultáneamente los parámetros  $k_{FL}$ ,  $\delta_1$  y  $c_B$ . Los valores de los parámetros fijos son:  $c_L = 2.4$ ,  $k_{LF} = 0.06$ ,  $k_{LB} = 0.006$  y  $\delta_2 = 0.40$ . Las gráficas muestran la carga viral normalizada respecto al valor basal versus tiempo de aplicación de la terapia en días. En la mayoría de los pacientes se observa un incremento en la viremia a las primeras horas de haber iniciado la terapia antirretroviral para posteriormente decaer en dos fases: una rápida y una lenta.

En la figura 5.11. se muestran los datos experimentales contrastados con la curva teórica correspondiente a los valores promedio estimados mediante el criterio 1) y el criterio 2). Se observa una concordancia entre el ajuste teórico con los datos experimentales

en la mayoría de los pacientes. No obstante, en los pacientes HG4, HG5, HG8 Y HG10 el aumento transitorio sobrepasa en gran medida al promedio. Lo mismo ocurre para los pacientes INCMNSZ1 e INCMNSZ3.



**Figura 5.11.** Comparación de los datos experimentales (puntos) con el ajuste teórico (línea negra) correspondiente a los valores promedio de los parámetros estimados mediante el criterio 1 (A y B) y el criterio 2 (C y D). Los gráficos muestran la carga viral normalizada de todos los pacientes versus tiempo de aplicación de la terapia en días. El comportamiento promedio predice un aumento de la carga viral una vez iniciada la terapia antirretroviral seguida de decaimiento de dos fases de decaimiento: una lenta y una rápida. La mayoría de los pacientes se ajusta a este comportamiento promedio salvo HG4, HG5, HG8 HG10 INCMNSZ1 e INCMNSZ3.

## 1.2. DISCUSIÓN

Nuestro trabajo nos permitió caracterizar la dinámica viral temprana en pacientes sometidos a terapia antirretroviral mediante un modelo multicompartimental, destacando tres fases en plasma sanguíneo: una primera fase de aumento transitorio asociada, según el modelo, con el desprendimiento de virus de células foliculares dendríticas o provenientes de tejido linfoide, una segunda fase de decaimiento rápido relacionado con la rápida desaparición viral y el cambio brusco de células productivamente infectadas de vida corta (relacionadas con  $\delta_1$ ), y una tercera fase de decaimiento más lento asociado con la posible contribución de virus en plasma de células de vida larga, como macrófagos (relacionados con  $\delta_2$ ) u otros reservorios latentes.

Nuestras estimaciones de  $c_B$  coinciden en orden de magnitud con lo reportado en la literatura en experimentos de distinta índole. (Perelson AS et al, 1996, Ramratnam B et al, 1999, Zhang L et al, 1999) (tabla 5.7). Dentro de nuestro modelo se logra asociar la variación de este parámetro con un parámetro biológico, a saber, el tiempo de vida media de una partícula viral en sangre.

Tipo de Experimento	Intervalo de valores estimados de $c_B$	Referencia
Medición de carga viral en individuos con VIH – 1 después de la administración de un inhibidor de proteasa.	2.06 d <sup>-1</sup> – 3.82 d <sup>-1</sup>	Perelson AS et al, 1996
Aféresis en pacientes infectados con VIH – 1.	9.1 d <sup>-1</sup> – 36 d <sup>-1</sup>	Ramratnam B et al, 1999
Infusión de SIV en macacos Rhesus	230.4 d <sup>-1</sup> – 777.6 d <sup>-1</sup>	Zhang L et al, 1999
Inyección de Bolus de SIV en macacos Rhesus	216 d <sup>-1</sup> – 302.4 d <sup>-1</sup>	
Medición de carga viral en individuos con VIH – 1 después de la administración de HAART	2.1 d <sup>-1</sup> – 91.5 d <sup>-1</sup> (HG) 12.1 d <sup>-1</sup> – 22.9 d <sup>-1</sup> (INCMNSZ)	Nuestras estimaciones

De acuerdo con el modelo matemático, el parámetro  $c_B$  es importante en la dinámica viral temprana, ya que valores altos indican una mejor respuesta a la terapia. El aumento transitorio que ocurre en varios de los pacientes al inicio del tratamiento es gobernado por

las tasas: de transferencia,  $k_{FL}$  y de decaimiento de células con vida corta  $\delta_1$ . El incremento de ambos parámetros tiende a elevar la carga viral una vez iniciada la terapia antirretroviral. No se tiene la suficiente información para discernir cuál de los parámetros tiene mayor relevancia biológica. Sin embargo, ambos parámetros parecen determinar la eficacia del tratamiento. Considerando a  $k_{FL}$  como el dominante, podemos decir que para valores pequeños, el compartimento de FDC está actuando como un reservorio del virus. Mientras que, para valores altos de  $k_{FL}$ , las partículas virales son rápidamente eliminadas después del tratamiento.

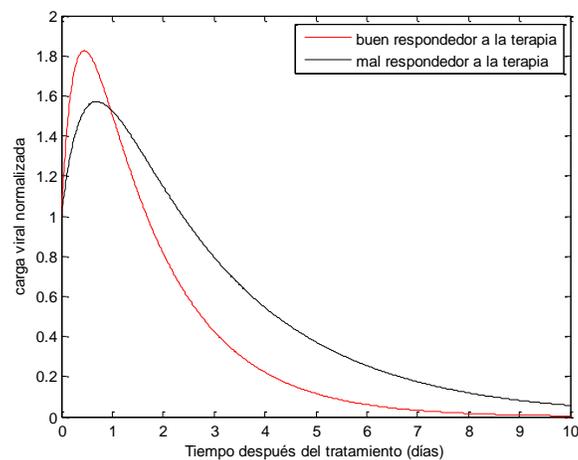
Nuestros resultados sugieren que la capacidad de unión de los receptores FDC, así como la liberación de virus de LT a plasma pueden ser parámetros importantes en la determinación de la progresión de la enfermedad. Así los individuos no progresores a largo plazo pueden estar asociados con valores altos innatos de la tasa de transferencia  $k_{FL}$ , pues ellos podrían estar liberando y eliminando partículas virales constantemente, manteniendo cargas virales relativamente bajas. Por otro lado, los progresores rápidos y típicos podrían estar acumulando partículas virales en LT debido a valores pequeños de la tasa de transferencia  $k_{FL}$ .

Pese a que nuestro modelo predice que el aumento transitorio es debido a la liberación de virus de las FDC o de LT hacia plasma sanguíneo, no podemos descartar la posibilidad de que otros compartimentos, por ejemplo el endotelio vascular, contribuyan a este incremento. Dada la amplia interacción del VIH con el endotelio vascular, se piensa que la unión de cantidades significativas del virus a este compartimento tiene por efecto la remoción y probable eliminación de partículas virales circulantes, incidiendo en los niveles de carga viral en la sangre. La eficiencia endotelial se reflejaría en su capacidad para unir y, posiblemente, eliminar virus. Se requieren experimentos donde se pueda correlacionar la variación de marcadores de la función endotelial con la variación de alguno de los parámetros del modelo multicompartimental.

Este incremento inicial de la viremia aparece en datos clínicos presentados por Müller et al, (1998) para medir la prognosis individual a las respuestas a largo plazo a quimioterapia en pacientes sometidos a monoterapia, haciendo uso de un inhibidor de proteasa. Aparentemente, los individuos que manifestaron un incremento notable en la

viremia al inicio de la monoterapia fueron buenos respondedores a la terapia, mientras que en los que no fue tan notable resultaron malos respondedores a la terapia (figura 5.17). Con base en estos resultados se pueden establecer criterios de clasificación de los pacientes en:

1. Buenos respondedores a la terapia.- Aquellos individuos que manifiestan valores relativamente altos de  $k_{FL}$ , ó  $\delta_I$  o de ambos, lo que ocasiona que aumente la carga viral al inicio de la terapia antirretroviral (es decir, mostrando picos de viremia).
2. Malos respondedores a la terapia.- Aquellos individuos cuyas tasas de transferencia  $k_{FL}$  y  $\delta_I$  no parecen verse afectados de manera significativa por la terapia.



**Figura 5.17.** Comportamiento reportado por Mueller et al (1998)

Una implicación importante es la posibilidad de identificar de forma temprana a pacientes en quienes la terapia puede tener mayor efectividad. Con base en información derivada de los primeros días del tratamiento y así poder cambiar el régimen terapéutico, o bien, incrementar la dosis del mismo de juzgarse necesario.

No obstante que el modelo multicompartimental puede describir, en promedio, el comportamiento de la dinámica viral temprana en la mayoría de los pacientes, existen excepciones. El modelo es incapaz de reproducir picos más allá de las primeras horas de iniciada la terapia y la gran variabilidad, mediante oscilaciones en la carga viral, que se manifiesta en la dinámica una vez iniciado tratamiento antirretroviral puede ser debida a procesos fisiológicos no incluidos en el mismo, tales como la contribución tardía de virus provenientes de otros compartimentos celulares. De acuerdo con las predicciones teóricas

(figura 4.5.) los picos de viremia pueden obtenerse mediante la variación de tres parámetros,  $c_B$ ,  $k_{FL}$  y  $\delta_1$ . Una disminución de  $c_B$  favorece a un aumento de la viremia, pero este incremento no se manifiesta de forma inmediata, sino que requiere de cierto tiempo para llevarse a cabo, y las alturas de los máximos que se logran son menores a las que se pueden lograr con un aumento de  $k_{FL}$  (figura 4.5B). Lo mismo ocurre para el caso de  $\delta_1$ , donde el pico de viremia es más angosto, pero se requiere de valores relativos más altos de  $\delta_1$  para lograr aumentos transitorios cuya altura sea comparable con la generada por la variación de  $k_{FL}$ . Dado que con valores relativos bajos de  $k_{FL}$  se dan aumentos transitorios de carga viral de forma rápida, que exceden hasta en cuatro veces la carga viral basal podemos afirmar que este parámetro tiene una mayor relevancia biológica en la generación de dichos incrementos (véase figura 4.5 del capítulo 4).

Lo más relevante en la estimación de  $Nk_T T_0$ ,  $Nk_M M_0$ ,  $\delta_1$  y  $\delta_2$ , es que para obtener los picos de viremia se requiere de valores relativamente altos de  $Nk_T T_0$ . Dado que  $N$  representa el número de viriones generados por célula productivamente infectada y  $k_T$  la tasa de infectividad,  $Nk_T T_0$  se puede asociar con la virulencia de la cepa viral. La variación de  $\delta_1$  modula la fase de decaimiento rápido correspondiente al cambio de células productivamente infectadas de vida corta, mientras que  $\delta_2$  lo hace con la fase de decaimiento lento correspondiente a la contribución en plasma de células de vida larga. Los valores promedio reportados de  $\delta_1$  y  $\delta_2$  son de  $0.70 \text{ d}^{-1}$  y  $0.066 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente (Perelson AS et al, 1997). Esto contrasta con nuestras estimaciones que produjeron valores más altos para los mismos parámetros (tablas 5.3 y 5.5), debido quizá al uso de un modelo multicompartimental mientras que los valores reportados son estimados a partir de un modelo de un solo compartimento.

## 1.1. CONCLUSIONES

Nuestro trabajo enfatiza dos aspectos básicos en el estudio de la dinámica del VIH – 1, a saber:

- 1) Caracteriza con datos clínicos la dinámica viral temprana al inicio del tratamiento antirretroviral y la describe mediante modelos matemáticos.
- 2) Revela la influencia de distintos compartimentos (células foliculares dendríticas y espacios intersticiales de tejido linfoide) en la dinámica viral en plasma.

En cuanto el primer aspecto se puede decir que, los modelos matemáticos han probado ser de gran valor en el entendimiento de la dinámica de la infección por VIH *in vivo*. Comparando estos modelos con datos obtenidos de pacientes sometidos a terapia antirretroviral, ha sido posible determinar muchas características cuantitativas de la interacción entre el VIH – 1, el virus que causa el SIDA y las células que son infectadas por el virus. La evolución de la infección hasta el estadio de SIDA involucra procesos dinámicos rápidos del orden de horas a días, así como procesos más lentos que ocurren en escalas de tiempo de semanas a meses. En particular, nuestro modelo multicompartimental pone de manifiesto la interacción dinámica entre distintos compartimentos mediante tasas de transferencia  $k_{FL}$  y  $k_{LB}$  y muestra que las cargas virales en cada uno de ellos puede ser producto de una redistribución celular y viral entre compartimentos, más que de la desaparición o aparición intrínseca de viriones o células.

La importancia del estudio de la dinámica viral temprana en pacientes sometidos a terapia antirretroviral radica en la posibilidad de establecer criterios para la prognosis del tratamiento, basados en información obtenida a las primeras horas o días de iniciado el régimen terapéutico. Mediante nuestro modelo multicompartimental se logró modelar la dinámica promedio de pacientes infectados con VIH – 1 tras el inicio de HAART mediante el ajuste de la tasa de desaparición intrínseca  $c_B$ , de la tasa de transferencia  $k_{FL}$  y de la tasa de decaimiento de células de vida corta  $\delta_1$ . Se estimaron estos parámetros a partir de datos clínicos con lo que se pudo establecer la importancia de dichos parámetros en la descripción la dinámica viral temprana como generadoras de picos de viremia una vez iniciada la HAART. No obstante, que se desconoce cuál de los parámetros tiene mayor

relevancia biológica, es consistente el hecho que un aumento transitorio de la viremia es producto de la liberación de virus de FDC o LT a plasma sanguíneo.

En lo referente al segundo aspecto el modelo multicompartimental predice que el aumento transitorio de la viremia a las primeras horas que siguen al inicio de la terapia antirretroviral es debido, principalmente, al desprendimiento masivo de virus libre de las FDC o de LT a plasma sanguíneo. Sin embargo, no podemos descartar la posible contribución de otros compartimentos, como el endotelio vascular. Aunque los efectos de la infección del VIH sobre la función endotelial se han reportado en repetidas ocasiones en la literatura, no existen estudios detallados de la relación de los parámetros de función endotelial con los de carga viral. Particularmente, no existen análisis de estadios tempranos de la infección en individuos que no han recibido tratamiento antirretroviral. De aquí la importancia de estudiar mediante el modelado matemático la posible contribución de compartimentos que no se incluyeron en nuestro modelo pero que pueden contribuir de forma activa a la carga viral en sangre.

# APÉNDICE I

## SELECCION DE LOS PACIENTES

### A) CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Hombres y mujeres adultos de 18 a 45 años de edad con diagnóstico confirmado y registrado en su expediente, de infección por VIH.
- Que cuenten con carga viral, CD4+ y genotipo
- Sin tratamiento antirretroviral previo.
- Que inicien terapia HAART de acuerdo a los criterios establecidos en la guía de manejo antirretroviral para las personas que viven con VIH/SIDA 2005-2006 de la SSA/CENSIDA”.
- Que acepten participar con firma de carta de consentimiento informado (Anexo 4).
- Que cumplan una de las siguientes categorías de inclusión:

Pacientes	Género	CD4+	TARAA*	Carga viral	Genotipo
1	Masculino	>250 cel	A	Cifra indistinta	
2	Femenino	>250 cel	A	Cifra indistinta	
3	Masculino	<250 cel	A	Cifra indistinta	
4	Femenino	<250 cel	A	Cifra indistinta	
5	Masculino	>250 cel	B	Cifra indistinta	
6	Femenino	>250 cel	B	Cifra indistinta	
7	Masculino	<250 cel	B	Cifra indistinta	
8	Femenino	<250 cel	B	Cifra indistinta	

\*seleccionada para inicio

### B. CRITERIOS DE NO INCLUSION

- Haber iniciado terapia antirretroviral
- Tener una infección oportunista previamente.
- Embarazo
- Personas VIH – positivas vacunadas recientemente.

### C. CRITERIOS DE ELIMINACION

- Quienes deseen abandonar el estudio
- Resistencia por genotipo al medicamento propuesto.

## APÉNDICE II

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

“ANÁLISIS DE LA DINÁMICA DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH-1) AL INICIO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL ALTAMENTE ACTIVA (TARAA).”

#### Datos del Investigador principal:

Nombre: Dr. Luis Enrique Soto Ramírez  
Dirección: Vasco de Quiroga # 15. Colonia Sección XVI. Tlalpan. CP 14000  
Teléfono: 5655 9675 extensión 104  
Centro: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Proyecto que corresponde a una investigación con *riesgo mínimo*

#### Estimado Sr. (a):

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y el Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) están coordinando esfuerzos para desarrollar una investigación referente a la acción de los medicamentos que se utilizan para tratar a la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1). Para este fin, le invitamos a participar de manera voluntaria en este estudio donde se determinará más ampliamente la acción de los medicamentos en personas que como usted, están infectados por el VIH-1, lo que nos permitirá proponer mejoras en los tratamientos actuales.

A continuación, le proporcionamos la información acerca del tipo de exámenes que se requerirán, del tiempo de duración del estudio, los riesgos y los beneficios de participar en el mismo:

Actualmente se sabe que la infección por el VIH-1 puede controlarse por medio de medicamentos llamados antirretrovirales. Para determinar la forma de actuar de estos

tratamientos, se requiere de tomar muestras de sangre en las cuales se mide la cantidad de virus que persiste después de iniciado el tratamiento. Los medicamentos valorados en el estudio, serán los autorizados por la Secretaría de Salud y establecidos en las “Guías de manejo antirretroviral para las personas que viven con VIH/SIDA, 2005-2006 de CENSIDA”.

En la mayoría de los pacientes, antes de que ocurra la disminución en los niveles del virus, se observa un aumento en la cantidad de virus en sangre durante las primeras horas después de iniciada la terapia con los antirretrovirales, en lugar de una disminución. En este estudio queremos entender a qué se debe este suceso. Tenemos razones para pensar que una cantidad de virus que se encuentra alojado en los ganglios linfáticos (pequeñas bolitas ubicadas en todo el organismo que sirven para su defensa ante las infecciones), pasa de forma repentina a la sangre, lo que explicaría el aumento inicial en la cantidad del virus.

Para determinar en forma precisa cómo se modifica la cantidad del virus es necesario tomar una serie de muestras de sangre de pacientes infectados por el VIH-1 durante los primeros días en que inician su tratamiento.

## **I. Objetivos del estudio**

- 1) Explicar el aumento y la posterior disminución de la cantidad del virus en la sangre debida a los medicamentos antirretrovirales actualmente aprobados por la Secretaría de Salud.
- 2) Verificar la existencia de una elevación en la cantidad del virus en la sangre en las horas siguientes al inicio de la terapia en pacientes que nunca habían recibido el tratamiento.
- 3) Determinar la forma en que se comporta la población del virus en la sangre a lo largo de la primera semana después de iniciada la terapia.
- 4) Establecer la posible relación entre la elevación de la cantidad del virus al inicio del tratamiento y la respuesta del organismo del paciente al mismo.
- 5) Comparar los datos de pacientes mexicanos con los de pacientes de otras partes del mundo.

6) Proponer modificaciones que permitan mejorar las terapias antirretrovirales que se administran actualmente a pacientes infectados por el VIH-1.

## **II. ¿Quiénes pueden participar en el estudio?**

Hombres y mujeres adultos de 18 a 45 años de edad con diagnóstico confirmado y registrado en su expediente de infección por VIH que inicien terapia antirretroviral (TARAA) de acuerdo con los criterios establecidos en las guías arriba mencionadas, que acepten participar voluntariamente, manifestándolo a través de la firma de esta **Carta de Consentimiento Informado**.

## **III. ¿Quiénes no pueden participar?**

Las personas que hayan recibido tratamiento antirretroviral previo.

Las mujeres embarazadas. Durante la primera consulta se pedirá la autorización de la paciente para realizarle una prueba de embarazo, que de resultar positiva, será excluida de este estudio.

Pacientes con enfermedad avanzada (SIDA), o con alguna otra enfermedad agregada por algún microorganismo diferente al VIH (agente oportunista).

Personas VIH-positivas vacunadas recientemente.

## **IV. ¿En qué consiste el estudio?**

Durante su participación, el personal médico y de enfermería involucrados en el tratamiento de su padecimiento en el servicio de Infectología del INCMNSZ realizará los estudios necesarios para la confirmación, tratamiento y seguimiento de la infección y sus complicaciones.

Con el objetivo de realizar este estudio, se requiere que usted se interne en el hospital durante 2 días para el inicio de su tratamiento y la toma de una serie de muestras de sangre en las que se determinará la cantidad de virus y su variación durante este tiempo. Además, en las mismas muestras de sangre se conocerá la cantidad de las células de

defensa que son principalmente infectadas por el virus, conocidas como células CD4. Se requieren de un total de 24 muestras sanguíneas. Las primeras 19 se obtienen en los dos primeros días de internamiento, por lo que con la finalidad de evitar la molestia que ocasionaría tomar cada una de ellas con aguja y jeringa, se colocará un catéter (conducto de plástico) en una vena y por medio del cual se pueden extraer en diversas ocasiones pequeñas cantidades de sangre (aproximadamente 12 mililitros de sangre que son los requeridos para cada medición). La forma en la que se tomarán las 24 muestras, es la siguiente:

- a) Una muestra se toma inmediatamente antes del inicio del tratamiento.
- b) Una muestra cada hora durante las primeras 6 horas.
- c) Una muestra cada 3 horas durante las siguientes 18 horas.
- d) Una muestra cada 4 horas durante las siguientes 24 horas.
- e) Una muestra cada dos días a la misma hora hasta el día 7 del inicio de la terapia antirretroviral.
- f) Una muestra al día 14 del inicio de la terapia antirretroviral.
- g) Una muestra al día 21 del inicio de la terapia antirretroviral.

En la muestra de sangre inicial se conocerán, además de los elementos ya mencionados, la composición y cantidad de las células sanguíneas y de grasa (biometría hemática, química sanguínea y triglicéridos).

## **V. ¿Qué molestias y riesgos se podrían esperar?**

Las molestias que existen al incorporarse al estudio son solamente las causadas por la colocación del catéter en la vena durante un tiempo máximo de 2 días, que es el tiempo de internamiento en el hospital. Por otra parte, el uso del catéter facilita la extracción de las muestras de sangre.

El riesgo de infección agregado por el uso del catéter en este caso se considera mínimo.

## **VI. ¿Cuáles son los beneficios que usted podría obtener de su participación en el**

## **estudio?**

Su registro en el estudio lo beneficiará a usted directamente al conocer de manera precisa su estado de salud y la respuesta que su organismo tiene ante el tratamiento. En particular conocerá los resultados de sus exámenes de sangre, es decir: carga viral y linfocitos CD4, necesarios en su tratamiento y seguimiento que estarán disponibles para tales fines y registrados en su expediente clínico. Además en la primera etapa del estudio se realizará la prueba de genotipo para conocer la presencia de resistencia transmitida. El beneficio de este estudio será de gran ayuda para un tratamiento antiviral dirigido.

Durante los 2 primeros días que dura el estudio se le asegura que usted contará con una cama disponible para su internamiento.

Durante su estancia de internamiento se asegurará que usted tome de manera regular sus medicamentos antirretrovirales lo cual es una necesidad para que el organismo pueda controlar el desarrollo del virus.

Usted recibirá tratamiento antirretroviral en el INCMNSZ a través de su médico tratante hasta que le deje de ser de utilidad (manifestación de resistencia a los antivirales administrados). En caso de presentar algún efecto secundario, usted será tratado y si fuera necesario, canalizado con el médico especialista correspondiente.

Usted recibirá consejería acerca de la infección por el VIH así como de la importancia de seguir las indicaciones médicas necesarias para su tratamiento.

Por otra parte, usted estará contribuyendo a conocer mejor la acción de los medicamentos contra el VIH para ayudar en la investigación de alternativas para el tratamiento de personas que como usted, padecen la infección por el virus.

## **VII. ¿Habrá algún tipo de remuneración por participar en este estudio?**

No se le cobrarán las cuotas de recuperación que normalmente usted pagaría por su atención y por los exámenes llevados a cabo en el INCMNSZ durante el tiempo que dure el estudio, incluyendo desde la consulta inicial de ingreso a éste, ya que estos gastos serán

absorbidos por la investigación.

En el caso de que usted requiriera atención médica por causa de la aparición de moretones o hematomas debida a la toma de las muestras, se le proporcionará por especialistas del INCMNSZ sin costo alguno.

### **VIII. Garantía de recibir respuesta**

Para contestar sus preguntas relacionadas con los aspectos clínicos de este estudio, puede comunicarse con:

*Dr. Luis Enrique Soto Ramírez*

Departamento de Infectología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Teléfono: 5655 9675 ext. 104

*Dra. Elsa Vidal Laurencio*

Departamento de Infectología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Teléfono: 5655 9675 ext. 111

Para contestar sus preguntas relacionadas con los aspectos éticos de este estudio, o sobre sus derechos, puede comunicarse con:

*Dr. Antonio R. Cabral Castañeda*

Coordinador del Comité Institucional de Investigación Biomédica en Humanos

Teléfono: 5487 0900 ext. 2195

Si tiene preguntas sobre este documento o sobre el estudio en general, puede comunicarse de lunes a viernes de las 9:00 a las 14:00 Hrs. con los siguientes colaboradores del estudio, quienes aclararán cualquier duda acerca de los procedimientos a seguir, sus riesgos y sus beneficios:

*Dr. Germinal Cocho Gil*

Instituto de Física UNAM

Circuito de la Investigación Científica, Ciudad Universitaria  
Deleg. Coyoacán, C.P. 04510, México, D.F.  
Tel. 56225150  
Correo electrónico: [cocho@fisica.unam.mx](mailto:cocho@fisica.unam.mx)

*Dr. Carlos Villarreal Luján*

Instituto de Física UNAM  
Circuito de la Investigación Científica, Ciudad Universitaria  
Deleg. Coyoacán, C.P. 04510, México, D.F.  
Tel. 56225099  
Correo electrónico: [carlos@fisica.unam.mx](mailto:carlos@fisica.unam.mx)

*Dra. Ma. Isabel Villegas Mota*

Telefono: 04455 2302 5664  
Correo electrónico: [isavillegas13@hotmail.com](mailto:isavillegas13@hotmail.com)

## **IX. Libertad de retirar su consentimiento**

Tiene usted la libertad de descartar esta invitación o de retirarse del estudio en cualquier momento, incluso habiendo aceptado participar voluntariamente en el mismo. Cualquiera que sea su decisión, no afectará de ninguna manera su relación como paciente del INCMNSZ, ni resultará en modo alguno en penalidad o pérdida de los beneficios a los cuales usted tiene derecho, como son atención médica y elaboración de exámenes de laboratorio y otros existentes en esta institución.

## **X. Confidencialidad**

Su identidad no será revelada en ningún informe o declaración escrita como resultado de su participación en el estudio.

## **XI. Información**

Todos los colaboradores del estudio tienen el compromiso de proporcionarle en

cualquier momento la información y los resultados derivados del estudio.

## **XII. Disponibilidad de tratamiento médico**

El grupo de investigadores se compromete a cubrir el costo de las consultas, internamiento y exámenes requeridos durante el estudio.

## **XIII. Funciones de los investigadores de este estudio.**

La Dra. María Isabel Villegas Mota supervisará el desarrollo general del proyecto. Por parte del INCMNSZ, el Dr. Luis E. Soto Ramírez y la Dra. Elsa Vidal Laurencio supervisarán los aspectos relacionados con las consultas, internamiento, tomas de muestras y atención médica de los pacientes.

## **XIV. Fuentes de financiamiento del estudio.**

El financiamiento de este proyecto estará a cargo de la Secretaría de Salud. El INCMNSZ absorberá los costos derivados del internamiento. El Instituto de Física aportará los servicios de sus sistemas de cómputo para el análisis estadístico y matemático de los resultados obtenidos del estudio.

## **ACEPTACIÓN**

Certifico que he recibido información clara y por escrito de los objetivos y procedimientos de este estudio. Se han atendido todas nuestras dudas y conozco los riesgos, beneficios y responsabilidades derivadas de nuestra participación. Si tengo cualquier pregunta sobre el estudio o sobre mis derechos como participante puedo llamar al Dr. Luis Enrique Soto Ramírez o a la Dra. Elsa Vidal Laurencio al teléfono 5655 9675 extensiones 104 o 111 respectivamente.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio en forma voluntaria y se me ha garantizado la confidencialidad de la investigación. Entiendo que en cualquier momento puedo renunciar al estudio sin perder los beneficios de la atención médica para mí. Por último, entiendo que se me otorgará una copia de esta forma.

---

Nombre del paciente (con letra de molde)	Firma	Fecha (dd/mmm/aaaa)
---	-------	---------------------

---

Nombre del tutor o responsable legal (con letra de molde)	Firma	Fecha (dd/mmm/aaaa)
--	-------	---------------------

Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

---

Persona que obtiene el consentimiento (dd/mmm/aaaa) (con letra de molde)	Firma	Fecha
--	-------	-------

Testigo 1

---

Nombre (con letra de molde)	Firma	Fecha (dd/mmm/aaaa)
-----------------------------	-------	---------------------

Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

Dirección:

\_\_\_\_\_

Testigo 2

---

Nombre (con letra de molde)	Firma	Fecha (dd/mmm/aaaa)
-----------------------------	-------	---------------------

Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

Dirección:

\_\_\_\_\_

## APÉNDICE III

### Guía de manejo antirretroviral para las personas que viven con VIH/SIDA 2005-2006 de CENSIDA

#### Criterios para Inicio de Terapia ARV

CATEGORÍA CLÍNICA	CD4	CV	RECOMENDACIÓN
<b>Infección Retroviral Aguda ó &lt; 6 Meses de Seroconversión</b>	Cifra Indistinta	X	Ofrecer Tratamiento (PROTOCOLIZAR)
<b>Infección Crónica Asintomática</b>	>350	X	Diferir tratamiento Vigilar cada 3-4 meses con nueva cuenta de CD4
	200-350	No disponible	Tratamiento
	200-350	<100,000 copias ARN viral*	Individualizar Vigilar cada 3-4 con CD4
	200-350	>100,000 copias ARN viral*	Tratamiento
	<200	X	Tratamiento
<b>Infección crónica sintomática</b>	Cifra indistinta	X	Tratamiento

X Es recomendable efectuar CV, aunque no indispensable para la toma de decisión

\* Valores de acuerdo a la técnica de RT/ PCR (Amplicor). No existe evidencia clara de los niveles recomendados para bDNA versión 3.0 u otras metodologías.

SSA/CENSIDA. *Guía de manejo antiretroviral de las personas que viven con el VIH/SIDA 2005-6.*

## APÉNDICE IV

### Declaración de Helsinki

Recomendaciones para guiar a los médicos en la Investigación biomédica que involucre seres humanos.

Adaptado a la 18ª Asamblea Médica Mundial. Helsinki, Finlandia, 1964 y revisado por la 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio Japón 1975

#### INTRODUCCION:

Es la misión del médico velar por la salud de las personas. Su conocimiento y conciencia debe de estar completamente dedicada a cumplir esta misión.

La Declaración de Génova de la Asociación Médica Mundial une al médico con las palabras: “La salud de mi paciente será mi primera consideración y el Código Internacional de Ética Médica declarará que “Cualquier acto o consejo que pudiera debilitar la resistencia física y mental de un ser humano debe de ser usada únicamente en su propio beneficio”.

El propósito de la investigación biomédica que involucra a seres humanos debe ser el mejorar los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos y el entendimiento de la etiología y patogénesis de la enfermedad.

En la práctica médica diaria, la mayoría de los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos involucran riesgos. Esto también se aplica a fortiori a la investigación biomédica.

El progreso médico está basado en la investigación que en última instancia debe descansar en parte en la experimentación que involucra a seres humanos. En el campo de la investigación biomédica debe reconocerse una diferencia fundamental entre la investigación médica donde la meta principal es el diagnóstico o la terapéutica y aquella donde el objetivo esencial es puramente científico y sin ninguna implicación diagnóstica y terapéutica en la persona que está siendo investigada.

Debe ponerse especial cuidado en la realización de una investigación que pueda afectar el medio ambiente y debe ser respetado el bienestar de los animales que son utilizados en la

investigación.

Debido a que es fundamental que los resultados de experimentos de laboratorio sean aplicados a seres humanos para incrementar el conocimiento científico y ayudar al sufrimiento de la humanidad, la Asociación Médica Mundial ha preparado las siguientes recomendaciones como guía para cualquier médico en investigación Biomédica que involucre a seres humanos. Estas recomendaciones deberán ser sujetas a revisiones en el futuro.

Debe señalarse que los lineamientos aquí mencionados son únicamente una guía para los médicos no son excluidos de responsabilidades criminales civiles y éticas bajo las leyes de su propio país.

#### PRINCIPIOS BASICOS:

- 1) La investigación biomédica que involucra seres humanos debe sujetarse a los principios científicos generalmente aceptados y debería estar basada en experimentaciones adecuadas de laboratorio y animales, así como en el conocimiento de la literatura médica.
- 2) El diseño y ejecución de cada procedimiento experimental que involucra seres humanos debería estar claramente formulado en un protocolo experimental, el cual será enviado a un comité independiente para su consideración, comentarios y guía.
- 3) La investigación biomédica que involucre seres humanos debe ser conducida solo por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un médico clínico competente. La responsabilidad para los sujetos humanos deberá siempre descansar sobre una persona médicamente calificada y no en el sujeto de experimentación aún cuando el sujeto haya dado su consentimiento.
- 4) La investigación biomédica que involucre seres humanos, no puede legítimamente ser llevada a cabo, a menos que la importancia del objetivo esté en proporción a los riesgos inherentes al sujeto.
- 5) Todo proyecto de investigación biomédica que involucre seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa evaluación de los riesgos predecibles en comparación con los posibles beneficios al sujeto o a otros seres humanos. En lo que concierne para los derechos del sujeto, éstos deben siempre prevalecer sobre el interés de la ciencia y de la sociedad.
- 6) Debe de ser siempre respetado el derecho de cada sujeto a salvaguardar su integridad. Debe tomarse todas las precauciones para respetar la privacidad y minimizar el impacto del estudio en la

integridad física y mental y en la personalidad del sujeto.

7) Los médicos deben abstenerse de comprometerse en proyectos de investigación donde participen seres humanos, a menos de que los riesgos involucrados sean previsibles. Los médicos deben cesar cualquier investigación si los peligros encontrados sobrepasan los beneficios potenciales.

8) En la publicación de los resultados, el médico está obligado a preservar la veracidad de los mismos. Los reportes de la experimentación que no estén de acuerdo con los principios estipulados en esta declaración no deben ser aceptados para publicación.

9) En cualquier experimento con seres humanos, cada sujeto potencial debe ser informado de los objetivos, métodos, beneficios anticipados, peligrosos potenciales y molestias que el estudio puede provocar. El individuo debe conocer la libertad que tiene para abstenerse de participar o retirarse del mismo si así lo desea. El médico debe obtener el consentimiento informado de preferencia por escrito.

10) Cuando se tenga el consentimiento informado para el proyecto de investigación, el médico debe ser precavido si el sujeto está en una relación independiente ya que puede consentir bajo coherción. En ese caso, el consentimiento informado deberá ser obtenido por un médico que no participe en la investigación y que completamente independiente de esta relación.

11) En caso de la incompetencia legal, el consentimiento informado debe de ser obtenido del guardián legal de acuerdo con la legislación nacional. En caso de que la incapacidad físico mental impidan obtener consentimiento informado o cuando el sujeto se in menor, el permiso del familiar responsable reemplaza al del sujeto de acuerdo con la legislación nacional.

12) El protocolo de investigación debe contener siempre las consideraciones éticas involucradas y debe contener los postulados de la presente declaración.

#### INVESTIGACION MEDICA EN COMBINACION CON LA ASISTENCIA CLINICA:

1) El tratamiento de las personas enfermas, el médico debe ser libre de usar un nuevo diagnóstico y una medida terapéutica, si en su juicio ofrece la esperanza de salvar una vida, reestableciendo la salud o aliviando el sufrimiento.

2) Los beneficios potenciales, riesgos y molestias de un nuevo método, deberán ser ponderadas con

las ventajas de la mejor prueba diagnóstica actual y métodos terapéuticos.

3) En cualquier estudio médico, cada paciente incluyendo aquéllos del grupo control si existe, deberá ser informado del mejor método diagnóstico y lo terapéutico.

4) El rechazo del paciente a participar en el estudio nunca debe de intervenir con la relación médico paciente.

5) Si el médico considera que es esencial no obtener consentimiento informado, las razones específicas de ello deberán ser escritas en el protocolo experimental de investigación, para que así sean transmitidas a un comité independiente.

6) El médico puede combinar la investigación médica con la asistencia siendo el objetivo de ello, la adquisición de nuevos conocimientos médicos.. Solo en la medida que la investigación médica esté justificada por su posible valor diagnóstico y terapéutico para el paciente.

### III INVESTIGACION BIOMEDICA NO TERAPEUTICA QUE INVOLUCRE SUJETOS HUMANOS (INVESTIGACION BIOMEDICA NO CLINICA)

1) En la sola aplicación científica de la investigación biomédica llevada sobre seres humanos, es el deber del médico permanecer como el protector de la vida y la salud de esa persona o sobre quien esté siendo llevada a la investigación.

2) Los sujetos deberán ser voluntarios ya sea personas sanas o pacientes para quienes el diseño experimental no esté relacionado con la enfermedad del mismo.

3) El investigador o grupo de investigadores deberán discontinuar la investigación si en su juicio, ésta pudiera continuarse y ser dañada al individuo.

4) En la investigación humana el interés de la ciencia y la sociedad nunca deberá tomar primacia sobre las consideraciones relacionadas al bienestar de los sujetos.

## REFERENCIAS

1. Alcamí J. *Avances en la inmunopatología de la infección por el VIH* Enferm Infecc Microbiol Clin. 2004 Oct;22(8):486-96.
2. Alcamí J, Laín de Lera T, Folgueira L, Pedraza MA, Jacqué JM, Bachelerie F, Noriega AR, Hay RT, Harrich D, Gaynor RB, et al. *Absolute dependence on kappa B responsive elements for initiation and Tat-mediated amplification of HIV transcription in blood CD4 T lymphocytes*. EMBO J. 1995 Apr 3;14(7):1552-60.
3. Bandrés JC, Zolla Pazner S. Inmunidad humoral en la infección por el VIH. En: González J, Moreno S, editors. *Infección por el VIH 1999*. Madrid: Doyma, 1999.
4. Berger EA, Murphy PM, Farber JM. *Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease*. Annu Rev Immunol. 1999;17:657-700.
5. Bermejo M, Sánchez-Palomino S, Usán L, Alcamí J. *Dynamics of HIV replication in lymphocytes and the efficacy of protease inhibitors*. J Med Virol. 2004 Aug;73(4):502-7.
6. Borrow P, Lewicki H, Wei X, Horwitz MS, Peffer N, Meyers H, Nelson JA, Gairin JE, Hahn BH, Oldstone MB, Shaw GM. *Antiviral pressure exerted by HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) during primary infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus*. Nat Med. 1997 Feb;3(2):205-11
7. Brodie SJ, Lewinsohn DA, Patterson BK, Jiyamapa D, Krieger J, Corey L, Greenberg PD, Riddell SR. *In vivo migration and function of transferred HIV-1-specific cytotoxic T cells*. Nat Med. 1999 Jan;5(1):34-41.
8. Brumme ZL, Goodrich J, Mayer HB, Brumme CJ, Henrick BM, Wynhoven B, Asselin JJ, Cheung PK, Hogg RS, Montaner JS, Harrigan PR. *Molecular and clinical epidemiology of CXCR4-using HIV-1 in a large population of antiretroviral-naive individuals*. J Infect Dis. 2005 Aug 1;192(3):466-74. Epub 2005 Jun 23
9. Cammack N. *The potential for HIV fusion inhibition*. Curr Opin Infect Dis. 2001 Feb;14(1):13-6.
10. Camaur D, Trono D. *Characterization of human immunodeficiency virus type 1 Vif particle incorporation*. J Virol. 1996 Sep;70(9):6106-11.

11. Cavert W, Notermans DW, Staskus K, Wietgreffe SW, Zupancic M, Gebhard K, Henry K, Zhang ZQ, Mills R, McDade H, Schuwirth CM, Goudsmit J, Danner SA, Haase AT. *Kinetics of response in lymphoid tissues to antiretroviral therapy of HIV-1 infection.* Science. 1997 May 9;276(5314):960-4.
12. Chanh TC, Dreesman GR, Kanda P, Linette GP, Sparrow JT, Ho DD, Kennedy RC. *Induction of anti-HIV neutralizing antibodies by synthetic peptides.* EMBO J. 1986 Nov;5(11):3065-71.
13. Chun TW, Carruth L, Finzi D, Shen X, DiGiuseppe JA, Taylor H, Hermankova M, Chadwick K, Margolick J, Quinn TC, Kuo YH, Brookmeyer R, Zeiger MA, Barditch-Crovo P, Siliciano RF. *Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection.* Nature. 1997 May 8;387(6629):123-4.
14. Chun TW, Engel D, Berrey MM, Shea T, Corey L, Fauci AS. *Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4(+) T cells during primary HIV-1 infection.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Jul 21;95(15):8869-73.
15. Chun TW, Finzi D, Margolick J, Chadwick K, Schwartz D, Siliciano RF. *In vivo fate of HIV-1-infected T cells: quantitative analysis of the transition to stable latency.* Nat Med. 1995 Dec;1(12):1284-90.
16. Chun TW, Nickle DC, Justement JS, Large D, Semerjian A, Curlin ME, O'Shea MA, Hallahan CW, Daucher M, Ward DJ, Moir S, Mullins JI, Kovacs C, Fauci AS. *HIV-infected individuals receiving effective antiviral therapy for extended periods of time continually replenish their viral reservoir.* J Clin Invest. 2005 Nov;115(11):3250-5.
17. Cloyd MW, Chen JJ, Adeqboyega P, Wang L. *How does HIV cause depletion of CD4 lymphocytes? A mechanism involving virus signaling through its cellular receptors.* Curr Mol Med. 2001 Nov;1(5):545-50.
18. Cocho G, Huerta L., Martínez G, Villarreal C. *A multiple compartment model for the evolution of HIV – 1 after highly active antiretroviral therapy.*In: Mathematical approaches for emerging and reemerging infectious disease. An introduction. Castillo – Chávez, C., Blower, S., Van Den Driessche, P., Kirschner, D. and Yakubu, A. (eds.) Springer Verlag, New York. 2002.
19. Deeks SG. *Treatment of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 infection.* Lancet. 2003 Dec 13;362(9400):2002-11.

20. Deeks SG, Smith M, Holodniy M, Kahn JO. *HIV-1 protease inhibitors. A review for clinicians.* JAMA. 1997 Jan 8;277(2):145-53
21. Deichmann M, Sczakiel G, Haas R. *Disinfection of cell-associated and extracellular HIV-1 by PUVA treatment.* J Virol Methods. 1997 Oct;68(1):89-95
22. Di Mascio M, Dornadula G, Zhang H, Sullivan J, Xu Y, Kulkosky J, Pomerantz RJ, Perelson AS. *In a subset of subjects on highly active antiretroviral therapy, human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma decays from 50 to <5 copies per milliliter, with a half-life of 6 months.* J Virol. 2003 Feb;77(3):2271-5
23. Dornadula G, Zhang H, VanUitert B, Stern J, Livornese L Jr, Ingerman MJ, Witek J, Kedanis RJ, Natkin J, DeSimone J, Pomerantz RJ. *Residual HIV-1 RNA in blood plasma of patients taking suppressive highly active antiretroviral therapy.* JAMA. 1999 Nov 3;282(17):1668-9.
24. Douek DC, Brenchley JM, Betts MR, Ambrozak DR, Hill BJ, Okamoto Y, Casazza JP, Kuruppu J, Kunstman K, Wolinsky S, Grossman Z, Dybul M, Oxenius A, Price DA, Connors M, Koup RA. *HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells.* Nature. 2002 May 2;417(6884):95-8.
25. Dournon E, Matheron S, Rozenbaum W, Gharakhanian S, Michon C, Girard PM, Perronne C, Salmon D, De Truchis P, Lepout C, et al. *Effects of zidovudine in 365 consecutive patients with AIDS or AIDS-related complex.* Lancet. 1988 Dec 3;2(8623):1297-302.
26. Emerman M, Malim MH. *HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology.* Science. 1998 Jun 19;280(5371):1880-4.
27. Ferri KF, Jacotot E, Blanco J, Esté JA, Zamzami N, Susin SA, Xie Z, Brothers G, Reed JC, Penninger JM, Kroemer G. *Apoptosis control in syncytia induced by the HIV type 1-envelope glycoprotein complex: role of mitochondria and caspases.* J Exp Med. 2000 Oct 16;192(8):1081-92.
28. Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, Smith K, Lisziewicz J, Lori F, Flexner C, Quinn TC, Chaisson RE, Rosenberg E, Walker B, Gange S, Gallant J, Siliciano RF. *Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy.* Nat Med. 1999 May;5(5):512-7.

29. Finzi D, Hermankova M, Pierson T, Carruth LM, Buck C, Chaisson RE, Quinn TC, Chadwick K, Margolick J, Brookmeyer R, Gallant J, Markowitz M, Ho DD, Richman DD, Siliciano RF. *Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy.* Science. 1997 Nov 14;278(5341):1295-300
30. Freed EO. *Viral late domains.* J Virol. 2002 May;76(10):4679-87.
31. Fry TJ, Mackall CL. *What limits immune reconstitution in HIV infection? Divergent tools converge on thymic function.* AIDS. 2001 Sep 28;15(14):1881-2.
32. García F, Alonso MM, Romeu J, Knobel H, Arrizabalaga J, Ferrer E, Dalmau D, Ruiz I, Vidal F, Frances A, Segura F, Gomez-Sirvent JL, Cruceta A, Clotet B, Pumarola T, Gallart T, O'Brien WA, Miró JM, Gatell JM. *Comparison of immunologic restoration and virologic response in plasma, tonsillar tissue, and cerebrospinal fluid in HIV-1-infected patients treated with double versus triple antiretroviral therapy in very early stages: The Spanish EARTH-2 Study. Early Anti-Retroviral Therapy Study.* J Acquir Immune Defic Syndr. 2000 Sep 1;25(1):26-35.
33. Gil J, Bermejo M, Alcamí J. *HIV and apoptosis: a complex interaction between cell death and virus survival.* Prog Mol Subcell Biol. 2004;36:117-49.
34. Gilliam BL, Dyer JR, Fiscus SA, Marcus C, Zhou S, Wathen L, Freimuth WW, Cohen MS, Eron JJ Jr. *Effects of reverse transcriptase inhibitor therapy on the HIV-1 viral burden in semen.* J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1997 May 1;15(1):54-60
35. Gomez C, Hope TJ. *The ins and outs of HIV replication.* Cell Microbiol. 2005 May;7(5):621-6.
36. Greene WC, Peterlin BM. *Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy.* Nat Med. 2002 Jul;8(7):673-80.
37. Gulick RM, Mellors JW, Havlir D, Eron JJ, Gonzalez C, McMahon D, Richman DD, Valentine FT, Jonas L, Meibohm A, Emini EA, Chodakewitz JA. *Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy.* N Engl J Med. 1997 Sep 11;337(11):734-9.
38. Gupta P, Mellors J, Kingsley L, Riddler S, Singh MK, Schreiber S, Cronin M, Rinaldo CR. *High viral load in semen of human immunodeficiency virus type 1-infected men at all stages of disease and its reduction by therapy with protease and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors.* J Virol. 1997 Aug;71(8):6271-5.

39. Guo Q, Ho HT, Dicker I, Fan L, Zhou N, Friborg J, Wang T, McAuliffe BV, Wang HG, Rose RE, Fang H, Scarnati HT, Langley DR, Meanwell NA, Abraham R, Colonna RJ, Lin PF. *Biochemical and genetic characterizations of a novel human immunodeficiency virus type 1 inhibitor that blocks gp120-CD4 interactions*. J Virol. 2003 Oct;77(19):10528-36
40. Haase AT. *Population biology of HIV-1 infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues*. Annu Rev Immunol. 1999;17:625-56.
41. Haase AT, Henry K, Zupancic M, Sedgewick G, Faust RA, Melroe H, Cavert W, Gebhard K, Staskus K, Zhang ZQ, Dailey PJ, Balfour HH Jr, Erice A, Perelson AS. *Quantitative image analysis of HIV-1 infection in lymphoid tissue*. Science. 1996 Nov 8;274(5289):985-9.
42. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD, Grimes JM, Demeter LM, Currier JS, Eron JJ Jr, Feinberg JE, Balfour HH Jr, Deyton LR, Chodakewitz JA, Fischl MA. *A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less*. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. N Engl J Med. 1997 Sep 11;337(11):725-33
43. Hart CE, Lennox JL, Pratt-Palmore M, Wright TC, Schinazi RF, Evans-Strickfaden T, Bush TJ, Schnell C, Conley LJ, Clancy KA, Ellerbrock TV. *Correlation of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in blood and the female genital tract*. J Infect Dis. 1999 Apr;179(4):871-82.
44. Hazenberg MD, Hamann D, Schuitemaker H, Miedema F. *T cell depletion in HIV-1 infection: how CD4+ T cells go out of stock*. Nat Immunol. 2000 Oct;1(4):285-9.
45. Hazuda DJ, Young SD, Guare JP, Anthony NJ, Gomez RP, Wai JS, Vacca JP, Handt L, Motzel SL, Klein HJ, Dornadula G, Danovich RM, Witmer MV, Wilson KA, Tussey L, Schleif WA, Gabryelski LS, Jin L, Miller MD, Casimiro DR, Emini EA, Shiver JW. *Integrase inhibitors and cellular immunity suppress retroviral replication in rhesus macaques*. Science. 2004 Jul 23;305(5683):528-32.
46. Helseth E, Olshevsky U, Furman C, Sodroski J. *Human immunodeficiency virus type 1 gp120 envelope glycoprotein regions important for association with the gp41 transmembrane glycoprotein*. J Virol. 1991 Apr;65(4):2119-23.

47. Hlavacek WS, Wofsy C, Perelson AS. *Dissociation of HIV-1 from follicular dendritic cells during HAART: mathematical analysis*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Dec 21;96(26):14681-6.
48. Hlavacek WS, Stilianakis NI, Notermans DW, Danner SA, Perelson AS. *Influence of follicular dendritic cells on decay of HIV during antiretroviral therapy*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Sep 26;97(20):10966-71
49. Herz AV, Bonhoeffer S, Anderson RM, May RM, Nowak MA. *Viral dynamics in vivo: limitations on estimates of intracellular delay and virus decay*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Jul 9;93(14):7247-51
50. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. *Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection*. Nature. 1995 Jan 12;373(6510):123-6.
51. Ho DD, Rota TR, Hirsch MS. *Infection of monocyte/macrophages by human T lymphotropic virus type III*. J Clin Invest. 1986 May;77(5):1712-5.
52. Hogg RS, Yip B, Chan KJ, Wood E, Craib KJ, O'Shaughnessy MV, Montaner JS. *Rates of disease progression by baseline CD4 cell count and viral load after initiating triple-drug therapy*. JAMA. 2001 Nov 28;286(20):2568-77.
53. <http://www.unaids.org/>. Informe sobre la epidemia mundial de SIDA 2009. ONUSIDA
54. Imrie A, Beveridge A, Genn W, Vizzard J, Cooper DA. *Transmission of human immunodeficiency virus type 1 resistant to nevirapine and zidovudine. Sydney Primary HIV Infection Study Group*. J Infect Dis. 1997 Jun;175(6):1502-6
55. Kim H, Perelson AS. *Viral and latent reservoir persistence in HIV-1-infected patients on therapy*. PLoS Comput Biol. 2006 Oct;2(10):e135. Epub 2006 Aug 28.
56. Kindt TJ, Goldby RA, Osborne BA. *Inmunología de Kuby*. México: 2007. Sexta edición. McGraw – Hill Interamericana.
57. Kuznetsov YG, Victoria JG, Robinson WE Jr, McPherson A. *Atomic force microscopy investigation of human immunodeficiency virus (HIV) and HIV-infected lymphocytes*. J Virol. 2003 Nov;77(22):11896-909.
58. Kwong PD, Doyle ML, Casper DJ, Cicala C, Leavitt SA, Majeed S, Steenbeke TD, Venturi M, Chaiken I, Fung M, Katinger H, Parren PW, Robinson J, Van Ryk D, Wang L, Burton DR, Freire E, Wyatt R, Sodroski J, Hendrickson WA, Arthos J. *HIV-1 evades*

- antibody-mediated neutralization through conformational masking of receptor-binding sites.* Nature. 2002 Dec 12;420(6916):678-82
59. Lambotte O, Chaix ML, Gubler B, Nasreddine N, Wallon C, Goujard C, Rouzioux C, Taoufik Y, Delfraissy JF. *The lymphocyte HIV reservoir in patients on long-term HAART is a memory of virus evolution.* AIDS. 2004 May 21;18(8):1147-58.
60. Lampinen TM, Kulasingam S, Min J, Borok M, Gwanzura L, Lamb J, Mahomed K, Woelk GB, Strand KB, Bosch ML, Edelman DC, Constantine NT, Katzenstein D, Williams MA. *Detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in oral and genital secretions of Zimbabwean women.* J Infect Dis. 2000 May;181(5):1785-90. Epub 2000 May 15
61. Levy JA. *The transmission of AIDS: the case of the infected cell.* JAMA. 1988 May 27;259(20):3037-8.
62. Levy JA. *El VIH y la patogénesis del SIDA.* México: FCE, INER, 2008.
63. Liu H, Wu X, Newman M, Shaw GM, Hahn BH, Kappes JC. *The Vif protein of human and simian immunodeficiency viruses is packaged into virions and associates with viral core structures.* J Virol. 1995 Dec;69(12):7630-8
64. Lu YL, Spearman P, Ratner L. *Human immunodeficiency virus type 1 viral protein R localization in infected cells and virions.* J Virol. 1993 Nov;67(11):6542-50
65. McCune JM. *The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease.* Nature. 2001 Apr 19; 410(6831):974-9.
66. Magis RC, Hernández MA. *Epidemiología del SIDA en México. 25 Años de SIDA en México. Logros, desaciertos y retos.* 2008. Primera Edición. Instituto Nacional de Salud Pública.
67. Mascola JR, Stiegler G, VanCott TC, Katinger H, Carpenter CB, Hanson CE, Beary H, Hayes D, Frankel SS, Birx DL, Lewis MG. *Protection of macaques against vaginal transmission of a pathogenic HIV-1/SIV chimeric virus by passive infusion of neutralizing antibodies.* Nat Med. 2000 Feb;6(2):207-10
68. Mayer KH, Boswell S, Goldstein R, Lo W, Xu C, Tucker L, DePasquale MP, D'Aquila R, Anderson DJ. *Persistence of human immunodeficiency virus in semen after adding indinavir to combination antiretroviral therapy.* Clin Infect Dis. 1999 Jun;28(6):1252-9

69. McCune JM, Rabin LB, Feinberg MB, Lieberman M, Kosek JC, Reyes GR, Weissman IL. *Endoproteolytic cleavage of gp160 is required for the activation of human immunodeficiency virus*. Cell. 1988 Apr 8;53(1):55-67
70. McMichael AJ, Rowland-Jones SL. *Cellular immune responses to HIV*. Nature. 2001 Apr 19;410(6831):980-7.
71. Müller V, Marée AF, De Boer RJ. *Release of virus from lymphoid tissue affects human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus kinetics in the blood*. J Virol. 2001 Mar;75(6):2597-603.
72. Mueller BU, Zeichner SL, Kuznetsov VA, Heath-Chiozzi M, Pizzo PA, Dimitrov DS. *Individual prognoses of long-term responses to antiretroviral treatment based on virological, immunological and pharmacological parameters measured during the first week under therapy*. AIDS. 1998 Oct 22;12(15):F191-6.
73. Nabel GJ, Sullivan NJ. *Antibodies and resistance to natural HIV infection*. N Engl J Med. 2000 Oct 26;343(17):1263-5.
74. Nettles RE, Kieffer TL, Kwon P, Monie D, Han Y, Parsons T, Cofrancesco J Jr, Gallant JE, Quinn TC, Jackson B, Flexner C, Carson K, Ray S, Persaud D, Siliciano RF. *Intermittent HIV-1 viremia (Blips) and drug resistance in patients receiving HAART*. JAMA. 2005 Feb 16;293(7):817-29.
75. Pakker NG, Notermans DW, de Boer RJ, Roos MT, de Wolf F, Hill A, Leonard JM, Danner SA, Miedema F, Schellekens PT. *Biphasic kinetics of peripheral blood T cells after triple combination therapy in HIV-1 infection: a composite of redistribution and proliferation*. Nat Med. 1998 Feb;4(2):208-14.
76. Palmer S, Wiegand AP, Maldarelli F, Bazmi H, Mican JM, Polis M, Dewar RL, Planta A, Liu S, Metcalf JA, Mellors JW, Coffin JM. *New real-time reverse transcriptase-initiated PCR assay with single-copy sensitivity for human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma*. J Clin Microbiol. 2003 Oct;41(10):4531-6.
77. Pandori MW, Fitch NJ, Craig HM, Richman DD, Spina CA, Guatelli JC. *Producer-cell modification of human immunodeficiency virus type 1: Nef is a virion protein*. J Virol. 1996 Jul;70(7):4283-90
78. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. *New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection*. N Engl J Med. 1993 Feb 4;328(5):327-35.

79. Pascual R, Moreno MR, Villalaín J. *A peptide pertaining to the loop segment of human immunodeficiency virus gp41 binds and interacts with model biomembranes: implications for the fusion mechanism.* J Virol. 2005 Apr;79(8):5142-52.
80. Perelson AS, Essunger P, Cao Y, Vesanen M, Hurley A, Saksela K, Markowitz M, Ho DD. *Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy.* Nature. 1997 May 8;387(6629):188-91.
81. Perelson AS, Nelson PW. *Mathematical Analysis of HIV-1 Dynamics in vivo.* SIAM REVIEW 1999. Vol. 41, No. 1, pp. 3–44
82. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. *HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time.* Science. 1996 Mar 15;271(5255):1582-6.
83. Piscitelli SC, Burstein AH, Welden N, Gallicano KD, Falloon J. *The effect of garlic supplements on the pharmacokinetics of saquinavir.* Clin Infect Dis. 2002 Jan 15;34(2):234-8. Epub 2001 Dec 5.
84. Piscitelli SC, Gallicano KD. *Interactions among drugs for HIV and opportunistic infections.* N Engl J Med. 2001 Mar 29;344(13):984-96.
85. Pomerantz RJ. *Reservoirs, sanctuaries, and residual disease: the hiding spots of HIV-1.* HIV Clin Trials. 2003 Mar-Apr;4(2):137-43.
86. Richman DD, Wrin T, Little SJ, Petropoulos CJ. *Rapid evolution of the neutralizing antibody response to HIV type 1 infection.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Apr 1;100(7):4144-9. Epub 2003 Mar 18
87. Sawai ET, Khan IH, Montbriand PM, Peterlin BM, Cheng-Mayer C, Luciw PA. *Activation of PAK by HIV and SIV Nef: importance for AIDS in rhesus macaques.* Curr Biol. 1996 Nov 1;6(11):1519-27
88. Si-Mohamed A, Kazatchkine MD, Heard I, Goujon C, Prazuck T, Aymard G, Cessot G, Kuo YH, Bernard MC, Diquet B, Malkin JE, Gutmann L, Bélec L. *Selection of drug-resistant variants in the female genital tract of human immunodeficiency virus type 1-infected women receiving antiretroviral therapy.* J Infect Dis. 2000 Jul;182(1):112-22.
89. Strain MC, Little SJ, Daar ES, Havlir DV, Gunthard HF, Lam RY, Daly OA, Nguyen J, Ignacio CC, Spina CA, Richman DD, Wong JK. *Effect of treatment, during primary infection, on establishment and clearance of cellular reservoirs of HIV-1.* J Infect Dis. 2005 May 1;191(9):1410-8. Epub 2005 Mar 29.

90. Taylor S, Reynolds H, Sabin CA, Drake SM, White DJ, Back DJ, Pillay D. *Penetration of efavirenz into the male genital tract: drug concentrations and antiviral activity in semen and blood of HIV-1-infected men.* AIDS. 2001 Oct 19;15(15):2051-3.
91. Tozzi V, Balestra P, Galgani S, Narciso P, Ferri F, Sebastiani G, D'Amato C, Affricano C, Pigorini F, Pau FM, De Felici A, Benedetto A. *Positive and sustained effects of highly active antiretroviral therapy on HIV-1-associated neurocognitive impairment.* AIDS. 1999 Oct 1;13(14):1889-97.
92. Van Kooyk Y, Geijtenbeek TB. *DC-SIGN: escape mechanism for pathogens.* Nat Rev Immunol. 2003 Sep;3(9):697-709.
93. Vernazza PL, Troiani L, Flepp MJ, Cone RW, Schock J, Roth F, Boggian K, Cohen MS, Fiscus SA, Eron JJ. *Potent antiretroviral treatment of HIV-infection results in suppression of the seminal shedding of HIV. The Swiss HIV Cohort Study.* AIDS. 2000 Jan 28;14(2):117-21.
94. Von Schwedler UK, Stuchell M, Müller B, Ward DM, Chung HY, Morita E, Wang HE, Davis T, He GP, Cimbara DM, Scott A, Kräusslich HG, Kaplan J, Morham SG, Sundquist WI. *The protein network of HIV budding.* Cell. 2003 Sep 19;114(6):701-13
95. Wei X, Decker JM, Wang S, Hui H, Kappes JC, Wu X, Salazar-Gonzalez JF, Salazar MG, Kilby JM, Saag MS, Komarova NL, Nowak MA, Hahn BH, Kwong PD, Shaw GM. *Antibody neutralization and escape by HIV-1.* Nature. 2003 Mar 20;422(6929):307-12
96. Wainberg MA, Beaulieu R, Tsoukas C, Thomas R. *Detection of zidovudine-resistant variants of HIV-1 in genital fluids.* AIDS. 1993 Mar;7(3):433-4.
97. Wiskerchen M, Muesing MA. *Human immunodeficiency virus type 1 integrase: effects of mutations on viral ability to integrate, direct viral gene expression from unintegrated viral DNA templates, and sustain viral propagation in primary cells.* J Virol. 1995 Jan;69(1):376-86.
98. Wong JK, Günthard HF, Havlir DV, Zhang ZQ, Haase AT, Ignacio CC, Kwok S, Emini E, Richman DD. *Reduction of HIV-1 in blood and lymph nodes following potent antiretroviral therapy and the virologic correlates of treatment failure.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Nov 11;94(23):12574-9.
99. Wyatt R, Sodroski J. *The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens.* Science. 1998 Jun 19;280(5371):1884-8.

100. Yerly S, Kaiser L, Perneger TV, Cone RW, Opravil M, Chave JP, Furrer H, Hirschel B, Perrin L. *Time of initiation of antiretroviral therapy: impact on HIV-1 viraemia. The Swiss HIV Cohort Study.* AIDS. 2000 Feb 18;14(3):243-9.
101. Zhang H, Dornadula G, Beumont M, Livornese L Jr, Van Uiter B, Henning K, Pomerantz RJ. *Human immunodeficiency virus type 1 in the semen of men receiving highly active antiretroviral therapy.* N Engl J Med. 1998 Dec 17;339(25):1803-9
102. Zuckerman RA, Whittington WL, Celum CL, Collis TK, Lucchetti AJ, Sanchez JL, Hughes JP, Sanchez JL, Coombs RW. *Higher concentration of HIV RNA in rectal mucosa secretions than in blood and seminal plasma, among men who have sex with men, independent of antiretroviral therapy.* J Infect Dis. 2004 Jul 1;190(1):156-61. Epub 2004 Jun 9.