

302927

Universidad femenina
de México



UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

ESCUELA QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
(INCORPORADA A LA UNAM)

7
2j

RESISTENCIA DEL VIH (VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA
HUMANA) A LA AZIDOTIMIDINA EN PACIENTES CON
TERAPIA PROLONGADA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO

BIOLOGO

PRESENTA :

AIDA ARACELI PIEDRAS CRUZ



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

U.F.M
UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO
INCORPORADA A LA UNAM

TESIS PROFESIONAL:

RESISTENCIA DEL VIH (VIRUS DE
INMUNODEFICIENCIA HUMANA) A LA
AZIDOTIMIDINA EN PACIENTES CON
TERAPIA PROLONGADA.

Vo. Do.
[Signature]
Asesor
5/Julio/95

AIDA ARACELI PIEDRAS CRUZ.

JULIO 1995

JURADO:

PRESIDENTE: Q.F.B. ESPERANZA HERNANDEZ KOELIG.

VOCAL: Q.F.B. SANTIAGO SALAZAR LOPEZ.

SECRETARIO: Q.F.B. AGUSTIN PALMA DE LA CRUZ.

SUPLENTE: Q.F.B. ALMA MIRIAM NOVELO TORRES.

SUPLENTE: Q.F.B. VIRGINIA ALMA TAMEZ Y SOTOMAYOR.

LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO ES UNA REVISION BIBLIOGRAFICA DE UNA SERIE DE ARTICULOS, LIBROS Y RESUMENES QUE EN ESTOS ULTIMOS ANOS SE HAN PUBLICADO EN LA MAYORIA DE LOS PAISES DEL MUNDO DEBIDO A LA GRAVEDAD DEL PROBLEMA.

AGRADEZCO A MIS PADRES SU APOYO MORAL Y ECONIMICO PARA QUE YO
LOGRARA LA CULMINACION DE ESTE TRABAJO QUE SIGNIFICA MI
SUPERACION PERSONAL Y PROFESIONAL. A ELLOS DEDICO CON TODO MI
AMOR ESTA OBRA.

A MIS MAESTROS UN RECONOCIMIENTO ESPECIAL POR HABER LOGRADO QUE
SUS ENSEÑANZAS DESPERTARAN EN MI EL INTERES DE CONTINUAR CON
ANIMO CADA ETAPA DE MI ENSEÑANZA ESCOLAR.

A MI ESPOSO CON MUCHO CARINO AGRADEZCO SU COLABORACION PORQUE
COMPARTIO LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO.

A MIS HERMANOS POR SU ENTUSIASMO, APOYO Y COMPRESION.

I N D I C E.

INTRODUCCION.	1
1.0 ANTECEDENTES.	5
1.1 Generalidades.	6
1.1.1 Importancia Social de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).	6
1.1.2 Epidemiología del SIDA.	7
1.1.3 Epidemiología del SIDA en México.	9
1.1.4 Población Principalmente Afectada.	11
1.1.5 Prevención del SIDA.	12
2.0 NATURALEZA DEL VIH (VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA).	14
2.1 Generalidades.	15
2.1.1 Estructura.	17
2.1.2 Mecanismos de Infectividad del Virus.	20
2.1.3 Mecanismos Inmunopatogénicos del VIH.	23
3.0 TRATAMIENTO QUIMICO.	26
3.1 Generalidades.	27
3.1.1 Mecanismo de Acción Selectivo.	29
4.0 BASES GENETICAS QUE CONFIEREN RESISTENCIA A CEPAS DE VIH CONTRA LA AZIDOTIMIDINA.	33
4.1 Generalidades.	34
4.1.1 Antecedentes Históricos de Experimentos.	36
4.1.2 Mutaciones multiples en la Transcriptasa Reversa del VIH.	39
4.1.3 Sensibilidad de Cepas de VIH al Recibir Tratamiento Simultaneo con Dos Antivirales	

Azidotimidina (AZT) y Dideoxinosina (DDI).	43
DISCUCION.	47
CONCLUSIONES.	49
BIBLIOGRAFIA.	51
GLOSARIO.	58

INTRODUCCION .

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida SIDA es un trastorno complicado del sistema de defensas del cuerpo. El SIDA ataca la estructura del sistema inmune, dejando al paciente sensible a microorganismos con los que había vivido previamente en relativa armonía. El estudio de esta enfermedad es muy necesario ya que es un fenómeno relevante en la salud pública mundial por su fácil transmisión y por la dificultad de atacar al agente causal (6,7). El agente infeccioso de la inmunodeficiencia humana es un virus perteneciente a la familia de los retrovirus, el cual es capaz de atacar los sitios de unión de la membrana de la célula huésped (8). El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es un patógeno que en la mayoría de las personas destruye gradualmente un componente crítico de la inmunidad, la población de linfocitos T, ya que éstas células coordinan la respuesta inmune celular de cada individuo. La infección por VIH se presenta de varias formas: desde anomalías subclínicas, infecciones por microorganismos oportunistas, hasta la enfermedad del SIDA (5).

El SIDA es un fenómeno de gran importancia y hoy día se está haciendo un gran esfuerzo en la investigación de esta enfermedad en todo el mundo, para desarrollar el tratamiento adecuado y conocer los efectos del mismo en los pacientes. Su importancia como enfermedad infecciosa está dada por su expansión cada vez mayor en las zonas metropolitanas de todo el mundo (1,3). Se estima que el 21% de 12.9 millones de individuos infectados en el mundo con el VIH, ha desarrollado SIDA y el 84% se encuentra muy

proximo a desarrollar esta enfermedad, manifestando el síndrome de inmunodeficiencia a partir de la fase asintomática y posterior a la manifestación de los primeros síntomas (3). Se estima que para 1995 el número de individuos infectados con el VIH se incrementará en un 50%. Para el año 2000, datos basados en estudios estadísticos indican que los individuos infectados por el virus serán 110 millones y de esta cantidad, 25 millones desarrollarán el SIDA en forma avanzada (3,6).

Mitsuya y colaboradores en 1985 encontraron sustancias similares a los nucleósidos del VIH que inhiben la replicación del VIH "in vitro" (3). Después de varios años de estudio, se encontró que la Azidotimidina (análogo de nucleósidos) impide la síntesis de la cadena del DNA del VIH (7). La azidotimidina (AZT o Zidovudina) es un compuesto similar a los nucleósidos de la cadena del DNA del VIH. Se encontró que es inhibidor efectivo de la replicación del VIH "in vitro" (7). Actualmente se ha generalizado el uso clínico de la azidotimidina en el tratamiento de pacientes con inmunodeficiencia humana, cuya administración ha sido continua y prolongada (3). Michael y colaboradores en 1989 descubrieron que pacientes con tratamiento prolongado presentaron resistencia a la AZT (16). Posteriormente, Douglas y colaboradores encontraron que esta resistencia al producto se presentaba por la formación de una o varias mutaciones en el genoma del VIH (34).

En base a lo anterior surge la inquietud de realizar un análisis de los avances en el estudio de la formación de cepas de VIH resistentes a la AZT, relacionados con las mutaciones genéticas

del VIH y el desarrollo de nuevos tratamientos químicos que eviten dicha resistencia, por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

- 1.- Analizar los factores mutagénicos del VIH que provocan la resistencia a la AZT.
- 2.- Estudiar la sensibilidad de cepas de VIH a la azidotimidina, al recibir un tratamiento simultáneo con otro fármaco.
- 3.- Conocer la situación del SIDA en México.

1.0 ANTECEDENTES

1.1 Generalidades.

1.1.1 Importancia Social de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

El Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana (SIDA), se ha convertido en un serio problema de salud pública, considerándose como una pandemia. Se está propagando en las zonas metropolitanas de todo el mundo. La epidemia se ha difundido en todas las clases sociales y se ha observado la marginación de estos enfermos (2). Desde los primeros casos en que se detectó ésta enfermedad se asociaron otras infecciones por oportunistas como la neumonía provocada por pneumocitis carinni; además de otros síntomas como linfodenipatía general, pérdida de peso, fiebre diarrea crónica y el Sarcoma de Kaposi como característica más trascendental. Se observa además una disminución de la población de Linfocitos "T" en los pacientes con infecciones por oportunistas.

Poco después se detecta una deficiencia notoria en las células del sistema inmune de los individuos infectados. Los mecanismos de transmisión más frecuentes de la infección son: transfusiones sanguíneas, uso de drogas intravenosas, transmisión sexual y finalmente por vía perinatal (3,5).

Mann en 1988 señala que el SIDA en términos económicos es una enfermedad sumamente cara y considera que para cada enfermo se gastan de 25,000 a 150,000 dolares.

La Compañía Burroughs Wellcome considera que si se usa la Azidotimidina en el tratamiento se reduce hasta un 25 a 36% el costo por paciente (6,9).

1.1.2 Epidemiología del Sida.

La epidemiología del SIDA varía considerablemente en cada región. Se estima que hasta 1986 existían en todo el mundo cien mil personas con SIDA declarado, de trecientas-mil a quinientas-mil presentaban otros síntomas de infección con VIH y de cinco a diez millones eran portadores asintomáticos. En América del Norte, Europa y América Latina el SIDA se presenta principalmente en homosexuales y bisexuales en un 71.6% y en drogadictos intravenosos en un 17.5%. Sin embargo en África y Haití las mujeres presentaron las mismas probabilidades que los hombres de contraer la infección y manifestar la enfermedad (3).

Más del 90% de pacientes en los Estados Unidos proviene de poblaciones con patrones de estilos de vida que incrementan el riesgo de adquirir la enfermedad, como la promiscuidad sexual y el uso de drogas intravenosas (10).

La distribución de los casos de SIDA se mantiene estable y la proporción de casos de emigrantes haitianos ha declinado ligeramente, mientras que la incidencia de pacientes que han recibido transfusiones con sangre infectada se ha incrementado.

Uno de los propósitos de los grupos de riesgo, fué conocer con exactitud los mecanismos de transmisión. Un análisis de casos de VIH en 1986 reveló que el mecanismo de transmisión más común fué por contacto sexual frecuente con una pareja infectada (hombre-hombre, hombre-mujer, mujer-hombre); en segundo lugar la vía parenteral (por uso de drogas intravenosas). También la infección se transmite por la leche materna; se descarta la

transmisión por contactos casuales (16).

Anteriormente se consideraba que la transmisión de la enfermedad ocurría exclusivamente por vía sexual o a través del coito anal (16). El VIH se ha aislado de sangre y de secreciones corporales como: saliva o semen, pero esto no quiere decir que el virus se transmita por todas las secreciones del individuo infectado (15). En Estados Unidos para 1987 un alto porcentaje de pacientes (54%) no supieron cómo adquirieron la enfermedad, sin embargo un 9% presentaron Sarcoma de Kaposi relacionado con el Síndrome de la Inmunodeficiencia (5).

Los factores de riesgo específicos para contraer la enfermedad incluyen: 1) el tener un elevado número de parejas; el coito anal; 3) la evidencia del historial clínico o serológico de haber presentado o tener actualmente sífilis o hepatitis (incluyendo las hepatitis A,C,D y E (21,23).

La incidencia estimada del SIDA es mayor en personas con una severa deficiencia del factor VIII, debido a que frecuentemente reciben mayor número de transfusiones, que los pacientes con hemofilia A, y ésta es mayor en personas que han recibido transfusiones de diez o más unidades de sangre o sus componentes (9).

La mayoría de los casos conocidos de enfermos reconocidos en el mundo se han encontrado en los Estados Unidos, aunque en Canada, el Caribe, países de Sudamérica, varios países de Europa, África incluyendo Zaire, Chad y Malí también se han presentado. Sin embargo no se ha disparado la incidencia en estos países. El

mayor número de casos reportados proviene de Norteamérica, América Latina y ciudades de Europa, principalmente en ciudades donde hay homosexuales, muchos de los cuales son particularmente jóvenes en etapa inicial temprana que han viajado a los Estados Unidos. En general las características de la enfermedad en estos países son similares a los reportados en los Estados Unidos (1). En Haití y África Central los casos presentan características diferentes (13,18). La sintomatología característica en estas regiones son problemas gastrointestinales, más frecuentes que los del tracto respiratorio, así como la frecuencia de la tuberculosis en un 37% de los casos. En los pacientes del centro de África se presentan con mayor frecuencia infecciones por *Candida* en esófago y triptococosis, así como infecciones causadas por toxoplasma, a diferencia de los pacientes en Estados Unidos que presentan principalmente neumonía por neumocitis carinni.

1.1.3 Epidemiología del SIDA en México Situación Actual.

Tendencias en México.

El panorama general de la epidemia del SIDA en México ha presentado tres tipos de tendencia, a finales de 1986 el incremento fue lento, en 1987 a 1990 el crecimiento fue de tipo exponencial y a partir de 1991 el crecimiento se ha amortiguado con una tendencia a la estabilización (Cuadro 1).

El análisis de tendencias por factor de riesgo en adultos indica un importante descenso en la transmisión sanguínea, 8.3% en los casos acumulados de 1994, 10.8% para el mismo período de 1992.

CUADRO 1
CASOS DE SIDA POR AÑO
EN MEXICO DE 1983-1994

AÑO	CASOS	TASA DE INCIDENCIA	RAZON H/M	PORCENTAJE DE CASOS MUJERES
1983	6	0.07	6:0	0.0
1984	6	0.07	6:0	0.0
1985	29	0.3	14:1	6.9
1986	246	2.9	30:1	3.2
1987	518	6.6	12:1	7.9
1988	905	10.6	6:1	13.5
1989	1,607	18.3	6:1	15.2
1990	2,588	31.8	5:1	16.2
1991	3,167	37.5	5:1	15.4
1992	3,220	37.5	6:1	15.2
1993	5,095	58.5	6:1	14.8
1994	1,173	13.5	6:1	13.6

En referencia a transmisiones heterosexuales la proporción de casos atribuibles a esta vía es de 33.9 en los casos acumulados de 1992. Indiscutiblemente la cifra que cada vez más ha cambiado es la de los casos en donde el factor de riesgo es desconocido 10.7% en 1992, 46.9% en 1994. Esto se debe a que ahora una proporción de casos, cada vez mayor es captada mediante certificado de defunción y dicho documento no consigna la vigilancia epidemiológica de HIV/SIDA. Otra tendencia en la epidemia del HIV/SIDA en México es el aspecto de la ruralización ya que cada vez es mayor el número de casos autóctonos en comunidades rurales. Hasta 1990 se habían registrado 224 casos acumulados en trabajadores agropecuarios.

En los hombre de edad de 25 a 44 años la mortalidad por SIDA se ha desplazado rápidamente a los primeros lugares y las tasas de de mortalidad por esta causa son cada vez mayores. En 1988 se registraron 340 defunciones por Sida en México.

De acuerdo con las tasas por millón de habitantes , las ciudades más afectadas son: Veracr con 1,435 casos, Guadalajara con 829; y Cuernavaca con 745; Distrito Federal con 657; y Puebla con 577 casos.

1.1.4 Población Principalmente Afectada.

Más del 90% de los pacientes con SIDA en el mundo tienen de 20 a 45 años . La mitad se encuentra entre los 30 y los 40 años. La edad media de los homosexuales con SIDA es de 35 años, mientras que para los drogadictos es de 36 años; por otro lado la edad media de los haitianos infectados es de 29 años (7,11).

En los Estados Unidos la mayoría de los pacientes que iniciaron con el SIDA después de recibir una transfusión sanguínea tuvieron la edad media. El rango de edad para pacientes en todos los grupos de riesgo, se extiende desde los 5 años hasta los 60 ó más y la distribución de edades de estos grupos no ha tenido un cambio muy marcado (19,20,21,23).

El 76% de los pacientes del mundo son hombres y el 34% son mujeres; pero esta proporción ha variado de la siguiente forma: 21% son mujeres drogadictas, 15% de los casos han ocurrido en pacientes de origen haitiano, 25% de los casos han sido por contacto heterosexual con personas de alto riesgo y 39% de los casos se han asociado con transfusiones sanguíneas. Sin embargo para todos los casos, la proporción en mujeres se ha mantenido constante (22).

La distribución étnica y racial de los pacientes con SIDA en los Estados Unidos se mantiene constante; 59% ocurre en blancos, 26% en negros y el 15% son personas de origen hispano. Son más frecuentes los homosexuales de raza blanca que padecen SIDA.

El rango de mortalidad de pacientes con SIDA varía ampliamente de acuerdo a la afección de la enfermedad; 24% de los pacientes presenta el Sarcoma de Kaposi, 49% presenta infecciones por oportunistas. Aproximadamente el 20% ha muerto después de tres meses de diagnóstico (9).

1.1.5 Prevención del SIDA.

Las recomendaciones se basan principalmente en interrumpir los principales mecanismos de transmisión. Evitar el contacto sexual

con personas infectadas. Para tener un mejor aseguramiento de los bancos de sangre, es necesario que las personas identificadas como factor de riesgo para el SIDA no donen sangre hasta que las pruebas de Laboratorio demuestren que el paciente tiene toda la capacidad de ser buen prospecto para donar sangre (3).

Se deben tomar muchas medidas de seguridad para en las prácticas del personal médico y enfermeras, así como del personal del laboratorio y otras personas directamente relacionadas con pacientes infectados. Se incluye el cuidado extremo del manejo de la sangre y otros fluidos corporales para evitar la inoculación accidental (23). La ropa de trabajo se debe desinfectar con un sanitizante apropiado como la solución de hipoclorito de sodio al 5.25%; las agujas o jeringas deben desecharse rápidamente y colocarse en un recipiente resistente a las rupturas, dicho recipiente debe emplearse únicamente para este fin, las agujas no deben re-esterilizarse ni colocarse en su estuche protector, dado que esto comunmente ocasiona heridas en los trabajadores. Todo el material utilizado debe desecharse siguiendo el procedimiento recomendado para destruir o desechar el material infectado. El material re-utilizable se debe sanitizar y esterilizar de una manera segura, así como se hace con los productos contaminados con el virus de la hepatitis; los otros tipos de instrumentos deben esterilizarse después de haberse usado en pacientes con SIDA (18,20,21).

2.0 NATURALEZA DEL VIH (VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA
HUMANA).

2.1 Generalidades.

El Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana es una enfermedad causada por un virus originalmente denominado Virus Linfotrópico de las células T humanas (HTLV-III), que posteriormente se denomina como Virus de la Inmunodeficiencia Humana (3).

Este virus pertenece a la familia de los retrovirus, los cuáles forman un eslabón entre los virus de RNA y los virus de DNA.

Fuera de las células el VIH existe en forma de partícula viral, cuyo contenido genético es el RNA. Al introducirse el VIH a las células humanas, una enzima viral llamada transcriptasa reversa, utiliza el mensaje genético contenido en las cadenas del RNA del virus para transformar su RNA en DNA dentro de la célula huésped. Este provirus formado en el citoplasma de la célula infectada se desplaza al núcleo, donde permanece en forma libre o se integra al DNA de la célula en cualquiera de sus cromosomas; Ahí permanece en forma latente como provirus ó codifica su mensaje al RNA mensajero para producir nuevas partículas virales (21,14). El nuevo virus libre llamado virión ataca los sitios de unión (receptores) en la superficie de la membrana celular. Estos sitios son moléculas bien descritas, como las moléculas de histocompatibilidad Clase I y Clase II, receptores CD4 de los Linfocitos T, receptores hepáticos, receptores tipo CD4 de los Linfocitos T de IgM, receptores del factor de crecimiento de Linfocitos T (18). Otras células susceptibles a la infección son los macrófagos, las células de langerhans, las células foliculares dendríticas, células microgliales y algunas células

intestinales.

La infección por VIH ocasiona inmunosupresión en la mayoría de los casos, principalmente una disminución de la población de los Linfocitos T, dado que son los primeros en atacar al virus.

El VIH tiene la capacidad de descontrolar al sistema inmunológico de los pacientes; la inmunosupresión inducida por el virus resulta como una deficiencia en las defensas del cuerpo, que lo hace muy susceptible a infecciones ocasionadas por microorganismos oportunistas y a la formación de neoplasmas (24,27). La inmunodeficiencia es progresiva e irreversible, la cual culmina con la muerte del paciente en una proporción cercana al 100%. Estudios realizados por Hirsch en 1989, revelaron que existe mucha variabilidad en el período de incubación, lo cual depende de la cepa viral que infecta al individuo y de la capacidad del paciente a responder inmunológicamente. Por otro lado, el diagnóstico de las infecciones por oportunistas varía de 1 a 4 años, y en algunos casos más tiempo (37,42).

2.1.1 Estructura

El VIH es de forma esférica, de aproximadamente 100 nanómetros de diámetro. El núcleo o "core" tiene forma de cono truncado. La nucleocápside se encuentra rodeada de una membrana lipídica con protuberancias protéicas. El núcleo o "core" está formado principalmente por una especie protéica (p24), que rodea a dos moléculas de RNA de cadena sencilla, que se encuentran asociadas a otra proteína (p9) y el complejo enzimático de la transcriptasa reversa. La nucleocápside se completa con la proteína (p18). Esta partícula nucleoprotéica, se rodea de una membrana lipídica, la cual obtiene por gemación a través de la membrana de la célula huésped. En esta membrana se encuentran dos glicoproteínas de origen viral, gp41 embebida en la membrana y que sirve de ancla para la gp120 que forma las protuberancias características de estos virus.

El VIH está formado por tres grupos de genes que tienen función estructural "gag", "pol" y "env"; tres genes con función reguladora "LRT", "tat" y "trs" y dos genes con función desconocida "sor" y "3'orf". (53,54,55).

El gene "gag" esta encargado de sintetizar las proteínas internas p18, p24 del VIH que envuelven el material genético (RNA); el gene "pol" sintetiza las proteínas p31 y p66 que forman parte de la transcriptasa reversa, la cual es la responsable de la síntesis de las glicoproteínas de membrana externa del virus gp160, gp120 y gp141 (44).

Las glicoproteínas gp160/120 son las respnsables de que el VIH

reconozca y se integre exclusivamente a aquellas células que sean portadoras de marcadores biológicos especiales colocados en la superficie de la membrana celular conocidos como DKT4 ó CD4, las cuáles son células de función inmunológica que al ser infectadas se destruyen por la acción citopática del virus, de tal modo que ocurre una inmunodeficiencia (15, 47, 53) Fig 1.

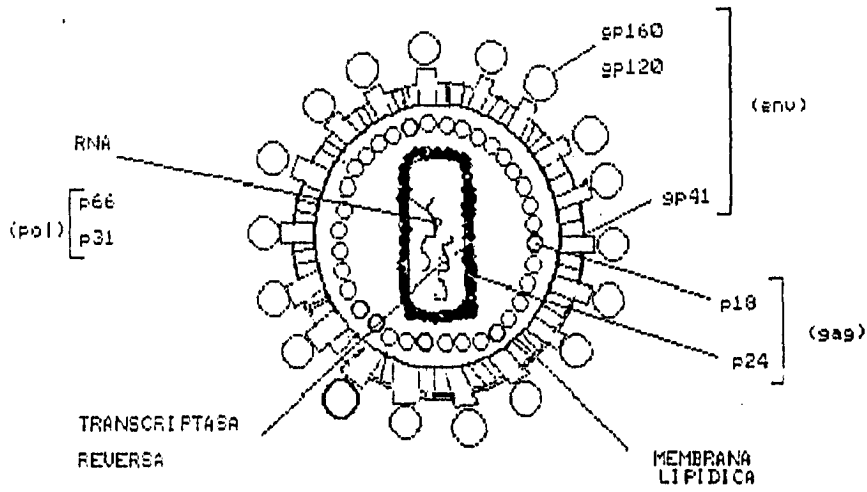


FIG.(1). ESTRUCTURA DEL VIH

2.1.2 Mecanismos de Infectividad del Virus.

El VIH tiene una preferencia selectiva por las células T-4, y los receptores CD4 e incrementan la afinidad hacia el virus. Después de que el VIH se pega a la molécula CD4 el virus se interna en la célula humana y queda envuelto. El mecanismo preciso de la forma en que el virus entra a la célula no está muy claro, se ha propuesto que la endocitosis juega un papel muy importante para que suceda el proceso de inclusión del virus, fig.1 (20,45).

Después de fijarse las glicoproteínas (gp 160 y gp 120) de la membrana externa del virus a una molécula CD4 de la superficie de la célula huésped, el virus penetra en el interior de la célula por endocitosis.(45).

Una vez que el virus está en el citoplasma de la célula el RNA viral se transforma en DNA por acción de la enzima transcriptasa reversa. El DNA proviral existe en forma lineal y migra al núcleo de la célula, posteriormente se integra al DNA de la célula huésped y se circulariza para poder integrarse. Después de que el provirus se integra al genoma puede suceder que permanezca en estado de latencia por mucho tiempo, sin mostrar signos de su presencia, o que inicie su replicación. Si la replicación es controlada no se produce lisis celular y la producción de nuevas partículas es rápida, se forma un gran número de partículas y se lisa la célula.(48).

Se lleva a cabo la traducción del DNA viral, este proceso emplea la maquinaria celular. Se produce en esta etapa RNAm viral, que se puede emplear en la formación de nuevas partículas ó puede

ser traducido para sintetizar proteínas virales. Se ensamblan las proteínas virales con el RNAm en el citoplasma de la célula.

En la membrana de la célula donde se han acumulado glicoproteínas virales ocurre una envoltura de las proteínas de la cápside del VIH y del RNA genómico, se forman nuevas partículas virales que geman hacia el exterior.(43).

Cuando ocurre la reproducción de los virus, la célula huésped generalmente se destruye. Sin embargo uno de los mecanismos críticos de la inmunopatogénesis del VIH son los efectos citopáticos en las células T-4. Otro mecanismo que se ha propuesto es el incremento masivo de la permeabilidad de la membrana de las células infectadas cuando se origina una gran cantidad de virus y éstos invaden la superficie de las células (41,59). Otros investigadores suponen que el VIH puede introducir una diferenciación terminal de las células T-4 infectadas y les produce un corto ciclo de vida (fig.2).

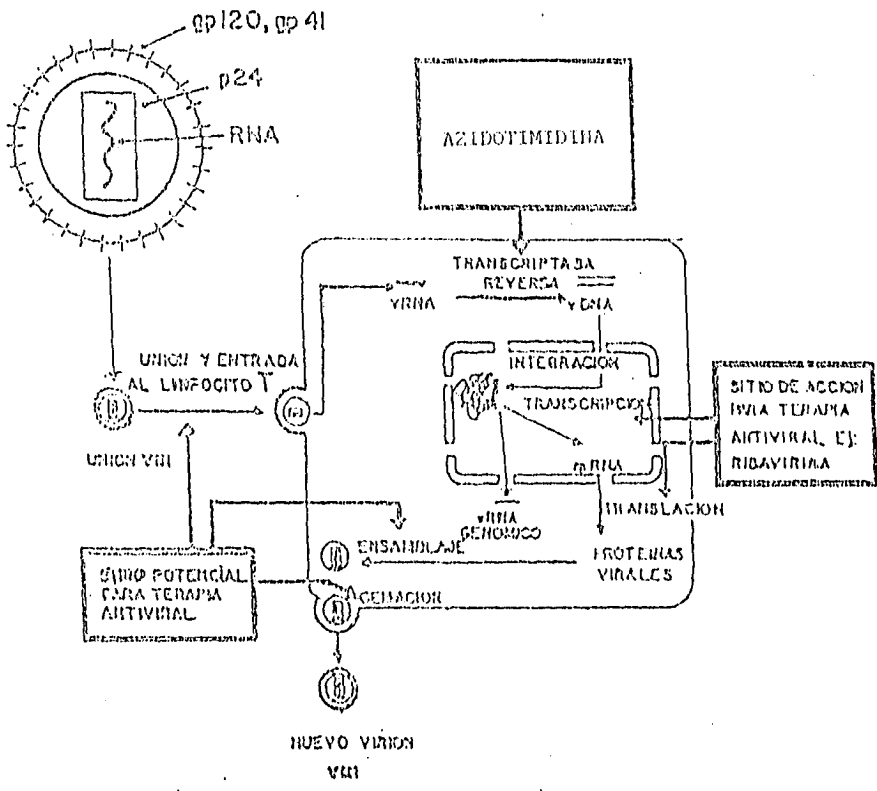


FIG.(2). CICLO DE REPLICACION DEL VIII.

2.1.3 Mecanismos de Infección Inmunopatogénicos del VIH.

La parte crítica de mecanismos de infección inmunopatogénicos del VIH es el agotamiento del auxiliados/inductor de los linfocitos T los cuales expresan la marca del fenotipo CD4 (la célula T4), resultando de la inmunosupresión profunda.

Sin embargo, un gran número de anomalías inmunológicas que acompañan la infección VIH han sido descritas, y algunas se han atribuido al defecto selectivo de las células T4.

Los linfocitos T4 son las células críticas involucradas directa o indirectamente en la inducción de la mayoría de las funciones inmunológicas. De aquí, un defecto funcional de las células T4 puede resultar de una disminución de los signos inductivos de la respuesta inmune y esto podría explicar la creación de un defecto selectivo en una célula aislada causando un defecto inmune global.

El VIH tiene un tropismo selectivo para las células T4 y que de alguna forma hace que la molécula CD4 tengan una gran afinidad receptora para virus. Después que el virus Vih se ha unido a la molécula CD4., el virus se interna y se recubre. El mecanismo de entrada del virus hacia la célula no es muy claro. Se ha sugerido que la endocitosis es un receptor mediador que juega un papel muy importante en este proceso. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la fusión independiente de PH de la membrana (gp41) del virus envuelto con la membrana de la célula se requiere para que el virus entre. La inactividad de las células de ratón infectadas con el gen CD4 y que han expresado la proteína

CD4 para ser infectadas con el VIH sugiere que otras proteínas en las células T4 humanas se requieren para la entrada del virus. Una vez dentro, el RNA genómico es transformado en DNA por la enzima transcriptasa reversa. El DNA proviral, el cuál existe en forma circular o lineal es integrado al cromosoma DNA en un proceso que depende de una endonucleólisis por el gen viral "pol". Una característica inusual para comparar la infección del VIH de otros retrovirus es la acumilación de una gran cantidad de DNA viral no integrado en la células infectadas, cuando este fenómeno ocurre en otros sistemas retrovirales, generalmente es asociado con efectos citopáticos y que supone un factor importante en la citopatosis del VIH.

Después de la integración del provirus, la infección puede asumir una fase lenta hasta que la célula infectada es activada. Cuando la activación ocurre, el DNA proviral se transforma en RNA genómico viral y en RNA mensajero (mRNA). El proceso de síntesis de las proteínas y la unión del virus ocurre cuando se fabrica un virion en la superficie de la célula.

Cuando la reproducción activa del virus ocurre la célula huésped usualmente es asesinada. Sin embargo una parte crítica no conocida de la infección inmunopatogénica del VIH es el mecanismo preciso del efecto citopático en las células T4. Otro mecanismo que ha propuesto es el incremento masivo de la permeabilidad en la membrana de la célula cuando una gran cantidad de virus se ha producido y emergen a la superficie de la célula, otros han especulado que el VIH induce diferencias en las células T4

infectadas, creandoles una vida muy corta, la evidencia de esto es muy poca.

3.0 TRATAMIENTO QUIMICO.

3.1 Generalidades:

Después de que se comprobó que el VIH es el agente causal del SIDA la Compañía Burrough Wellcome en 1984 encontró que un compuesto estudiado en 1964 como posible anticancerígeno , inhibe la replicación del VIH "in vitro". En el período de diciembre de 1984 a febrero de 1985 se llevaron a cabo estudios adicionales en tres laboratorios los cuales confirmaron que el compuesto era efectivo para inhibir la replicación del VIH "in vitro". En el segundo trimestre de 1985 se iniciaron los estudios de Farmacología y Toxicología en animales. En junio de ese mismo año ya se tenían suficientes resultados que se presentaron ante las autoridades para que se autorizara el uso de azidotimidina (retrovir) en estudios clínicos con humanos (3,7). Posteriormente se iniciaron estudios clínicos de la fase I, diseñados para probar la toxicidad, tolerancia, farmacocinética, distribución y excreción del retrovir en pacientes seleccionados con SIDA (30,31). Los resultados fueron lo suficientemente alentadores, en febrero de 1986 se efectuó un estudio doble ciego comparativo con placebos. Los pacientes que recibieron retrovir no tuvieron una mortalidad significativa comparada a la de los pacientes que solo fueron tratados con placebos. Así se demostró que la Azidotimidina es efectiva para controlar la infección. En todos los estudios realizados tanto en animales como en humanos, se detectó una rápida excreción del medicamento, sin alteración ni evidencia de acumulación. Además se comprobó que la Azidotimidina no presentó efectos importantes sobre el sistema nervioso central

así como tampoco efectos cardiovasculares. Con este medicamento se logró reducir el número de infecciones por microorganismos oportunistas y las infecciones que permenecieron o se presentaron fueron menos severas. Este fármaco también disminuye la replicación del VIH lo cual permite controlar considerablemente la infección y reestablecer el sistema inmunológico (42).

El 20 de marzo de 1987, la Food Drug Administration (FDA) aprobó la azidotimidina para el uso en pacientes con infección sintomática por VIH (avanzado) e historia de pneumocitosis citológicamente confirmada, o bien, con un número absoluto de linfocitos CD4 inferiores a 200/m³ en sangre periférica antes de comenzar el tratamiento.

La Azidotimidina es el único producto con acción específica frente al VIH que ha demostrado su eficiencia contra el SIDA en ensayos clínicos controlados, lo que ha permitido su comercialización y empleo generalizado.

Su eficacia se demuestra tanto al aumentar la supervivencia de los enfermos con SIDA como al mejorar la calidad de vida de los mismos.

Sin embargo, se ha visto que el uso de AZT tiene indudables limitaciones en el Sida avanzado; la mitad de los enfermos de algunos experimentos han muerto algunos de los que continúan vivos tienen un número bajo de células CD4. Los pacientes con mejor pronóstico, que han mostrado mayor respuesta a la terapia antiviral combinada son aquellos que tienen una cuenta de CD4 mayor de 200 cel/mm³ (15, 39, 62).

3.1.1 Mecanismo de Acción Selectivo.

La Azidotimidina se incorpora al DNA del retrovirus por medio de la transcriptasa reversa e interrumpe la síntesis de la cadena del DNA debido a que se altera la región 3' de la cadena de RNA e impide la formación del enlace 5'-3'diester el cuál es esencial para la terminación de la cadena del DNA. O puede provocar una inhibición competitiva con el 5'trifosfato de los nucleósidos normales de la transcriptasa reversa del VIH (31,33,34) (fig.3). Esta utilización preferencial como inhibidor competitivo constituye la base de la capacidad de este fármaco para desarrollar un efecto antivirico a determinada concentración sin que esto ejerza una acción tóxica a la célula (40,39). Los inhibidores de la transcriptasa reversa han sido objeto de numerosas investigaciones clínicas, se ha demostrado que es absorbida rápidamente por el tracto gastrointestinal y tiene una vida media de 1 hora. Después de la administración oral la biodisponibilidad es del 65% (33,35,37).

El uso clínico de la azidotimidina se ha generalizado en el tratamiento de pacientes con SIDA (41,42), en estos pacientes es necesario el tratamiento constante para impedir la destrucción de las células de la inmunidad en el individuo afectado, sin embargo, se ha demostrado en experimentos recientes, que la mayoría de las cepas aisladas muestran una reducción a la Azidotimidina cuando son tratados por tiempos prolongados (38,39,40). Algunos autores indican que la resistencia generada en el VIH contra la azidotimidina es originada por una o varias

mutaciones en el gene "pol", el cual corresponde a la polimerasa (TR) (59).

El significado clinico de la resistencia de la azidotimidina es indeterminado. No hay resistencia de VIH que haya sido probada en pacientes sin tratamiento, aunque existen reportes de resistencia de VIH en pacientes que han recibido un tratamiento largo con azidotimidina. Sin embargo, estos pacientes han mostrado resistencia a otros agentes antivirales.

La Azidotimidina detiene la síntesis de la cadena del DNA de los retrovirus, incluyendo al VIH, a través de una inhibición competitiva de la transcriptasa reversa. El medicamento se convierte intracelularmente en forma trifosfato. También se ha observado que posee una actividad contra el virus epstein-barr "in vitro" y contra las bacteria Gram negativas. La actividad anti-VIH de azidotimidina se ha logrado "in vitro" por un número de fármacos incluyendo dextrasulfatos, y por el recientemente investigado agente antiviral castanospermine, zalzitavine y didanosina. El sinergismo antiviral se demostró contra el VIH "in vitro" con una combinación de azidotimidina con interferón alfa. El interferón alfa también alcanza la actividad de la azidotimidina en células infectadas persistentemente con VIH. La azidotimidina disminuye la reproducción del VIH y el efecto del factor del tumor de necrosis (60,61,62).

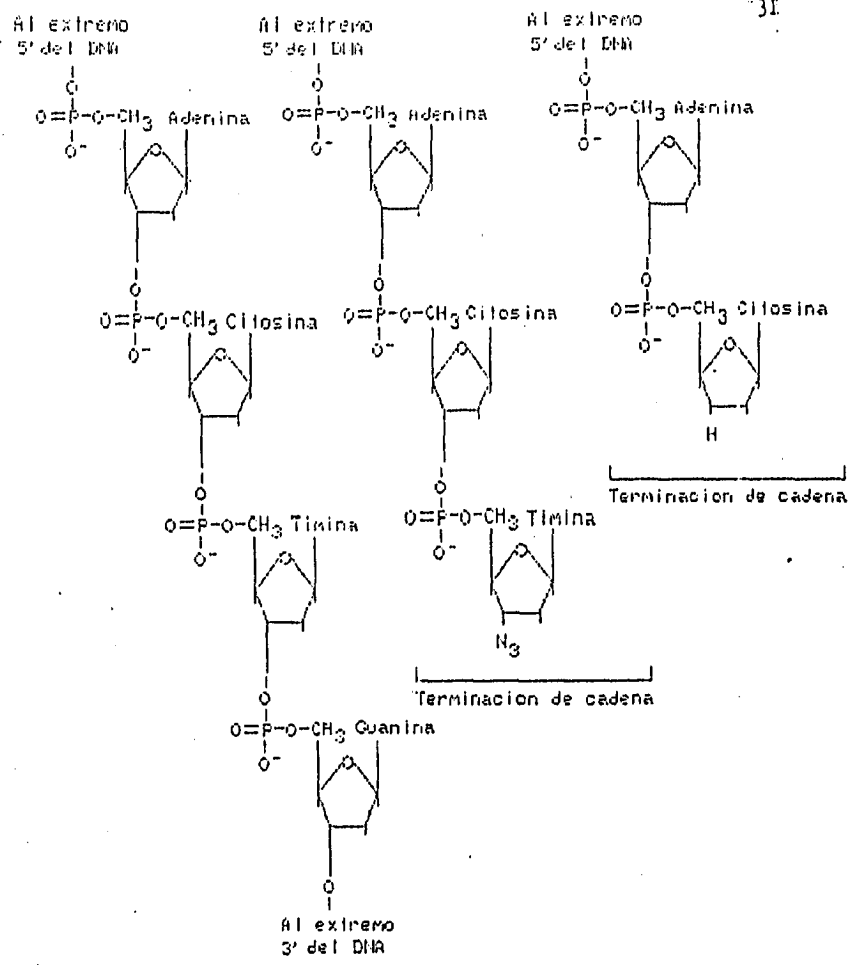


Fig. 3. terminación de cadena, uno de los mecanismos de acción de los trifosfatos de didesoxinucleósidos. A la derecha se muestra una cadena DNA normal. Cuando el 5'-trifosfato de AZT (centro) o el 5'-trifosfato de 2',3'-didesoxicitidina (derecha) son incorporados al extremo 3' terminal de la cadena de DNA en crecimiento, deja de ser posible la formación de nuevos enlaces 5'-3' fosfodiéster y acaba la producción de la cadena.

Estructura Química de la Azidotimidina.

Timidina. 3'-azido-3'-deoxy-, Azidothymidine AZT (retrovir).

Es un análogo de la timidina que inhibe la replicación del VIH.

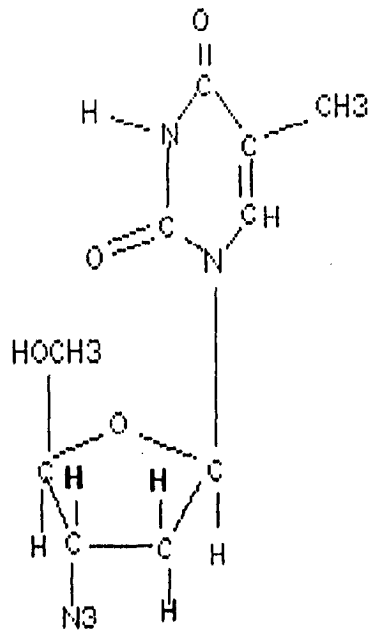


FIG.(4). 3'-Azido-2',3'-didexoxitimidina (AZT)

4.0 BASES GENETICAS QUE CONFIEREN RESISTENCIA A CEPAS
DE VIH, CONTRA LA AZIDOTIMIDINA.

4.1 Generalidades.

Cuando hablamos de combinaciones en el material hereditario, nos referimos a los cromosomas y genes que son los componentes esenciales para la formación del DNA y RNA de una nueva célula.

Los compuestos o nucleótidos que sirven como elemento de construcción del DNA y RNA se conocen como pirimidinas (timidina, uridina y citidina) y purinas (adenosina y guanosina), estos son fosforilados hasta una forma 5'trifosfato por las enzimas de los mamíferos. Sin embargo en los cromosomas y en los genes pueden ocurrir ciertos cambios. Estos cambios en el material hereditario se conoce como mutaciones, las cuáles pasan a las nuevas células que se forman durante la división celular.

Las mutaciones pueden actuar a nivel de estructura, en el número de cromosomas ó en la naturaleza química de los genes (22,26).

Cuando existe un cambio en la estructura ó en el número de cromosomas se conoce como una alteración cromosómica. ahora un cambio en la naturaleza química del DNA es una mutación genética; como sucede en el DNA de la transcriptasa reversa del VIH (2,27).

Las mutaciones ocurren al azar, y el mecanismo por el cuál se crean en el virus del VIH no esta bien definido, es decir, se desconoce.

Las mutaciones generadas en el VIH se transmite solo en células que provienen de la célula mutante original, es decir, de la primera que es la causante de originar la resistencia a la azidotimidina.

Los efectos que causan estas mutaciones en el virus del VIH son lo suficientemente severos como para producir un descenso considerable en las células CD4 del paciente (17).

Es de importancia recordar que se entiende por gene, cromosoma y codon. Un cromosoma es la parte de la célula en donde se encuentran las moléculas de DNA. Un segmento de DNA que codifica para la formación de una proteína se llama gene. Una sucesión de tres nucleótidos en una molécula que codifica para un aminoácido se llama codon (10,12,17).

En este capítulo se tratará el tema de las bases genéticas de la formación de mutantes en la TR del VIH.

4.1.1 Antecedentes Históricos de Experimentos.

A partir de 1988 en Estados Unidos en el Molecular Science Department The Wellcome Laboratories, se iniciaron nuevos estudio y experimentos en cepas de pacientes infectados con el VIH los cuáles recibieron tratamiento prolongado con azidotimidina. Las cepas provenientes de 12 pacientes que fueron tratados durante seis meses ó más, mostraron una reducción considerable en las células CD4, lo que provocó una reducción en sensibilidad a la azidotimidina; mientras que los aislados de otro grupo de pacientes tratados por menos de seis meses mostrarón una sensibilidad uniforme al fármaco sin reducción de la cantidad de células CD4 (1,35).

Puesto que este fué uno de los primeros experimentos, el número relativamente pequeño de los pacientes estudiados dificultó la evaluación de significancia clínica de dichas observaciones.

Con el objeto de evaluar el descenso de las CD4 relacionado con la resistencia a la azidotimidina y para determinar la transmisión de un virus resistente, hasta la fecha se realizan nuevos experimentos con un número elevado de pacientes que se seleccionaron en grupos y la utilización de nuevas técnicas rápidas de laboratorio que demuestren la sensibilidad al fármaco. Por otro lado a partir de 1990 a 1992 en el Department of Virology, University of Amsterdam, también se realizaron experimentos para saber los efectos causados en cepas de virus de humanos infectados. El tratamiento con azidotimidina en las cepas de éstos individuos infectados redujo la sensibilidad "in vitro.

Esta reducción fué debida a las mutaciones causadas provablemente por la sustitución en el aminoácido de 5 codones de la enzima transcriptasa reversa del VIH. Las cepas fueron obtenidas de 8 a 69 semanas después de la interrupción de la terapia de 10 pacientes en diferentes fases de la enfermedad. La presencia de la resistencia conferida por las mutaciones fué determinada por el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (42).

La mayoría de los cambios encontrados en los 5 codones de los 10 pacientes, dió como resultado el incremento en la resistencia.

Estos estudios se realizaron en cepas de grupos pequeños de individuos en diferentes fases de la enfermedad, quienes fueron tratados con azidotimidina por 1 ó 2 años; mostrando en el período de 1 año que se detectaran cambios severos en las mutaciones lo que provocó gran resistencia a la AZT (65,68,72).

Los experimentos antes mencionados fueron la base de las investigaciones de la resistencia creada por mutaciones. A partir de esto en otros países desarrollados como Francia, Japón y Alemania desde 1989 hasta la fecha han venido realizando estudios y experimentos en busca de nuevas alternativas de tratamiento.

En la actualidad los países desarrollados involucrados en ésta investigación, desarrollan un amplio y sofisticado programa de ensayos clínicos de las fases más precoces de infección de VIH.

Como parte de estos ensayos se incluye el estudio de nuevas dosificaciones, combinación de la azidotimidina con otros antiviricos y así buscar potenciar la acción de la azidotimidina

y complementarla con la restauración del sistema inmune.

Se encuentran en fase de experimentación combinaciones de la AZT con aciclovir, dideoxicitidina, foscarnet e interferon entre otros que todavía no se dan a conocer hasta tener resultados (2,42,45,50).

4.1.2 Mutaciones Múltiples en la Transcriptasa Reversa del VIH.

El uso clínico de la azidotimidina se ha generalizado desde que se demostró que es beneficioso para el tratamiento de pacientes con SIDA avanzado.

Sin embargo, a pesar de que los pacientes que reciben terapias prolongadas de este medicamento controlan las infecciones oportunistas, desarrollan una resistencia uniforme contra la azidotimidina al cabo de un tiempo de tratamiento de seis meses a un año aproximadamente. En otros casos de pacientes se encontró una reducción significativa en la supervivencia a largo plazo de los sujetos tratados con azidotimidina después de 15 a 18 meses de tratamiento (36,72).

Se cree que la azidotimidina inhibe la replicación del VIH en virtud de la capacidad de su forma trifosfato para unirse a la TR del VIH y así provocar la terminación de la cadena de la síntesis del DNA viral (70). Así también se cree que la resistencia se debe probablemente a mutaciones en los genomas de la TR.

Brendan y colaboradores en 1988 decidieron examinar inicialmente un número de cepas resistentes. Se estudiaron cepas de pacientes con VIH que mostraron reducida sensibilidad a la azidotimidina, y así poder determinar las bases genéticas de su resistencia.

La mayoría de las cepas aisladas se obtuvieron al inicio y durante la terapia, haciendo un análisis de secuencias de nucleótidos de la TR comparativo con la región codificada de 5 pares de cepas sensibles y resistentes. Recuperaron la TR completa por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR).

Amplificaron el DNA de la célula infectada y la insertaron en un vector.

Se compararon secuencias completas de aminoácidos de la transcriptasa reversa predecidas, provenientes de pares resistentes obtenidos de los mismos pacientes, los cuales mostraron diferencias de entre 14 y 17 semanas. Sin embargo en cada caso se identificaron cambios en el aminoácido en cuatro residuos (Asp67---Asn), (Lys70---Arg), (Thr215---Phe ó Tyr) y (Lys219---Gln). El análisis de los pares de aislados sensibles y sumamente resistentes provenientes de otros pacientes infectados, mostraron las mismas mutaciones en las posiciones 67,70 y 215, mientras que el tipo silvestre Lys en el residuo 219 se conservo (fig.4) (67,78). Los cuatro residuos en cada cepa mostraron conservación absoluta, implicando en forma muy marcada la existencia de mutaciones creadoras de la resistencia a la azidotimidina (70,72).

Para la detección de lo antes descrito se usaron como blanco un fragmento del gen "pol" el VIH aislado de una clona infectada. Se introdujeron simultáneamente cambios nucleosídicos específicos en el gene de la transcriptasa reversa donde las mutaciones fueron confirmadas por secuencia de nucleósidos (69,70). En todas las cepas estudiadas se identificaron tres sustituciones de aminoácidos comunes en todas las cepas resistentes (Asp67---Asn) (Lys70---Arg), (Thr215---Phe ó Tyr), además de una cuarta sustitución en 3 cepas (Lys219---Gln). Las cepas resistentes presentaron cambios en estas cuatro combinaciones. Una clona

molecular infectada formada con estas cuatro mutaciones en la TR otorga una alta resistencia al VIH después de transferirla a los Linfocitos T. La naturaleza reproducible de estas mutaciones podría ser posible el desarrollo de ensayos rápidos para predecir la resistencia a la azidotimidina desarrollando una amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa de ácidos nucleicos de los Linfocitos de sangre periférica (73).

Sin embargo los cambios observados en Thr219---Phe ó tyr en cepas resistentes requieren la presencia de transición de dos nucleótidos (ACC---TTC) ó (ACC---TAC), las mutaciones en Thr215 pueden ser las previsoras más críticas para el desarrollo de un alto nivel de resistencia. En forma similar, el significado de la mutación Lys219 también presenta un nivel elevado de resistencia. Es importante aclarar que se se requieren de mutaciones múltiples para otorgar la elevada resistencia a la azidotimidina (72,74).

Los cuatro residuos de aminoácidos estudiados (Asp69, Lys70, Thr215 y Lys219) se localizaron en el dominio terminal NH2 de la transcriptasa reversa el cuál posiblemente sea el responsable de reconocer los nucleósidos y de la función de la polimerasa.

También se encontro que los niveles de las células CD4 de sangre periférica disminuyen notablemente en pacientes que presentan mutaciones en el codon 215 del gene "pol" del VIH (67).

Sheehy y colaboradores en 1991 y hasta 1993 encontraron que mutaciones ocurridas en el codon 215 confieren resistencia parcial hacia la azidotimidina. Sin embargo las mutaciones en los codones 67 y 219 mostraron no disminuir la sensibilidad, pero

estos cambios pueden aparecer en el fenotipo (76).

En cepas sensibles solo se presentan cambios en las posiciones 35, 43, 102, 124, 133, 150, 254, 282, 298, 299, 445, 449, 472, 493 y en las posiciones 121, 122, 135, 179, 245, 267, 272, 277, 293, 297, 316, 326, 375, 376, 386, 390, 400, 403, 460, 466, 468, 469, 470, 519 y 527. En cepas resistentes solo se observaron cambios en las posiciones 41, 60, 70, 108, 123, 142, 151, 162, 172, 173, 195, 207, 211, 215, 270, 281, 286, 292, 311, 334, 335, 360, 379, 399, 419, 464, 466, 516 y 553. Además se encontraron mutaciones de aminoácidos en las posiciones 41 (Met---Leu) y 215 (Thr---Tyr) y otro aislado presentó cambios en las posiciones 70 (Lys-- Arg), la cuál mostró ser una cepa viral resistente a la azidotimidina (75,76).

		67				70				
NH -	Lys-	Lys-	Asp-	Ser-	Thr-	Lys-	Trp-	Arg-	COOH	
2										
			Asn			Arg				
			AO12D			AO12D				
			AO18C			AO18C				
			AO36D			AO36D				
			PO22C			PO22C				
			PO26B			PO26B				

		Leu	215					219		
NH -	Gly-	-	Thr-	Thr-	Pro-	Asp-	Lys-	Lys-	COOH	
2		Phe								
		Phe	Tyr					Gln		
		AO12D	AO18C					AO12D		
		PO22C	AO36D					AO18C		
			PO26B					PO22C		

Fig.(4). Mutaciones en la TR del VIH que confieren resistencia a la zidovudina. Se representan las dos áreas de aminoácidos de la TR del VIH conteniendo residuos significativos para la resistencia.

4.1.3 Sensibilidad en Cepas de VIH al Recibir Tratamiento Simultáneo con Dos Antivirales Azidotimidina y Dideoxi-inosina.

Tanto la azidotimidina como la didanosina (2'3'dideoxi-inosina; ddi) y la zalcitabina (2'3'dideoxicitidina; ddC) son las terapias antivirales del momento, disponibles para los pacientes con infecciones por VIH tipo 1. Estos análogos de nucleósidos han mostrado trabajar con el mismo mecanismo, en el cuál la forma trifosfato interviene en la interrupción prematura de la síntesis de la cadena de DNA catalizado por la transcriptasa reversa (78). Han encontrado que las cepas de VIH con mutaciones específicas en el gene "pol" provocan resistencia a todos estos nucleósidos, durante la terapia. Sin embargo, las mutaciones seleccionadas por la AZT y por la DDI no confieren resistencia cruzada (78). En algunos casos, la resistencia a algunos nucleósidos se sobrepone y las sustituciones específicas para DDI son (Leu74---Val) ó (Met184---Val). El cambio de la Leu74---Val también provoca una revisión de la resistencia de Thr215---Tyr en la transcriptasa reversa.

Este efecto interactivo de una combinación de sustituciones permite especular que un tratamiento simultáneo con ambos antivirales (AZT y DDI) pueden prevenir la aparición de variantes de VIH "in vitro". También sugiere que la misma unión de AZT-trifosfato (AZT-TP), puede efectuarse en varias formas por éstas sustituciones seleccionadas por DDI y AZT (71). Estas observaciones incrementan la posibilidad de que una función implica que otra unión distinta a la AZT-TP puede alterarse en

las cepas de VIH resistentes a la AZT (77).

St. Clair y colaboradores en 1993 observaron que las cepas aisladas de pacientes que interrumpieron su tratamiento con azidotimidina de 6 a 12 meses y después iniciaron su tratamiento con DDI crearon gran resistencia (75).

Yarchoan y colaboradores en 1989 y hasta 1991 trabajaron con 3 cepas resistentes a la azidotimidina "in vitro" que no manifestaron cambios en sus secuencias de aminoácidos. Se observó que las cepas aisladas de pacientes que interrumpieron su tratamiento con azidotimidina para continuarlo con DDI mostraron mayor sensibilidad a la azidotimidina. Por otro lado, las cepas aisladas de pacientes que recibieron tratamiento con AZT por 2 meses fueron resistentes. Y las cepas aisladas de pacientes tratados con AZT por 12 meses mostraron resistencia "in vitro" pero no presentaron mutaciones asociadas con la transcriptasa reversa de esta cepa.

Las cepas resistentes a la azidotimidina que no tuvieron cambios de aminoácidos en las posiciones: 108 (Val---Ile), 135 (Ile---Val), 281 (Lys---Arg), 464 (Gln---Lys), 245 (Met---Gln), 334 (Gln---His), 335 (Gly--Asp), 379 (Ser---Gly) y 173 (Lys---Glu). Además algunas cepas presentaron cambios de aminoácidos en las posiciones 211 (Arg---Lys) (69,75).

Los resultados obtenidos por Boucher y colaboradores en 1992 en el análisis de los niveles de CD4 de pacientes que interumpieron su tratamiento con AZT sugiere que algunos pacientes pueden beneficiarse por este medicamento mientras las cepas aisladas

presenten por lo menos un descenso en la resistencia genotípica ó fenotípica del AZT. Mientras no exista un grupo disponible para la investigación no se sabrá que tan prolongado debe ser el tratamiento con AZT para prevenir la disminución de los niveles de CD4 (75).

Los incrementos de los valores del antígeno p24 en pacientes que interrumpieron su tratamiento con AZT también sugiere un beneficio con AZT en los pacientes con cepas resistentes. Sin embargo, los niveles de antígeno p24 no cambiaron en forma consistente después de la interrupción del tratamiento de AZT. Esto es un marcador poco confiable para medir la replicación viral en esta situación (75,77).

DISCUSION.

La azidotimidina, la didanosine y la zalcitabine son los medicamentos de elección actuales disponibles para los pacientes infectados con VIH, dado que son capaces de atacar selectivamente a los componentes virales sin daños severos a la célula huésped. Algunas células infectadas pueden morir por acción del fármaco, sin embargo, la mayoría de las células infectadas se destruyen por la acción del virus. Se ha demostrado que el empleo de la azidotimidina, mejora inmunológica y clínicamente a los pacientes con SIDA. Reduce la morbilidad y la mortalidad de estos pacientes. La azidotimidina cruza la barrera de sangre-cerebro, por lo que tiene un efecto favorable en los síntomas neurológicos de los pacientes tratados. La azidotimidina tiene efectos mínimos en el virus, disminuye únicamente las cantidades de VIH de 1 a 1.5. Esto sugiere que la azidotimidina es parcialmente efectiva en la inhibición de la replicación viral. Clínicamente, la cantidad de células CD4 se incrementa durante los primeros meses de terapia con azidotimidina, pero usualmente de los 4 a los 6 meses después del tratamiento, regresa a los niveles iniciales y después continúa declinando. La disminución de los niveles de CD4 sugieren que algunos pacientes pueden beneficiarse por este medicamento, mientras las cepas aisladas a partir de ellas presente por lo menos un descenso en la resistencia genotípica ó fenotípica a la AZT. Hasta que haya un grupo disponible para la investigación se sabrá que tan prolongado debe ser el tratamiento con AZT para prevenir la

disminución de los niveles de CD4. Varios estudios han demostrado que los niveles de antígenos p24 disminuyen durante el tratamiento. Sin embargo, los incrementos de los valores del antígeno p24 en algunos pacientes, después de la interrupción del tratamiento con AZT, también sugiere que algún beneficio se puede presentar en los pacientes con cepas resistentes a AZT. Es necesario el estudio más profundo en un grupo de pacientes en los cuáles sea continuo el tratamiento con AZT para evaluar el beneficio actual en este punto. Yarchoan y colaboradores en 1989 trabajaron con pacientes de los cuáles aislaron cepas resistentes a la AZT y los trataron con didanosina. Los pacientes presentaron una disminución en la replicación del VIH. La resistencia de la azidotimidina de algunas cepas de VIH disminuyó al tratar al paciente simultáneamente con otro fármaco. El cambio de cepas resistentes a sensibles no ocurre rápidamente y depende de la duración del tratamiento.

CONCLUSIONES.

Como se podrá concluir cada vez son más los casos de SIDA que se detectan a nivel mundial, tanto en hombres, mujeres y niños.

Actualmente el número de mujeres y niños que se encuentran infectados eleva en gran medida los porcentajes estadísticos a nivel mundial, lo que provoca que los factores de riesgo asociados a la transmisión del VIH se presentes en diferentes proporciones según el país y la entidad.

El incremento proporcional más grande de casos reportados en Estados Unidos y México se acumula en personas infectadas a través de transmisión heterosexual. Este trabajo resume que los heterosexuales son los portadores más peligrosos para la transmisión del VIH puesto que no se tienen bien identificados y carece de la honestidad del individuo para comunicarlo.

Ahora bien es importante aclarar que el fármaco usado para el tratamiento es la azidovudina la cuál, al principio de su descubrimiento se pensó que podría ser muy efectivo para atacar al virus del VIH; pero al cabo del tiempo se encontró que los pacientes al tener terapia prolongada a una cierta dosis crearon cierta resistencia al medicamento. Por lo que se concluye que la azidotimidina no es el fármaco ideal, puesto que el efecto que causa solo es detener el avance del VIH para atacar a los linfocitos T del sistema inmune y disminuir las infecciones oportunistas del individuo.

Por otro lado los mecanismos de inmunopatogénesis de la infección del VIH no se conocen del todo bien, es decir, solo se tienen

hipótesis que tratan de explicar el comportamiento del VIH en la creación de la resistencia.

Se cree que la resistencia es creada por mutaciones múltiples en 5 codones del gen de la transcriptasa reversa.

Así también se concluye que los experimentos realizados en las investigaciones de la creación de la resistencia se realizan en países desarrollados; desgraciadamente en nuestro país no contamos con los equipos y las técnicas sofisticadas para realizar investigaciones que nos lleven a nuevos caminos de investigación.

Por último no queda claro el tiempo que debe prolongarse el tratamiento con AZT para prevenir la disminución de los niveles de CD4. La resistencia del VIH a la AZT después de un tratamiento prolongado, disminuye al emplear simultáneamente otro agente antiretroviral.

Los experimentos realizados tampoco dejan en claro el tiempo que debe prolongarse el tratamiento con AZT para prevenir la disminución de los niveles de CD4 y a que dosis.

Las terapias antirretrovirales que pueden no crear resistencia consisten en crear una ó varias combinaciones con otros dideoxínucleósidos.

Por último los mecanismos por los cuales se crean las mutaciones que genera la resistencia a AZT no se conocen con certeza. Solo existen hipótesis que han resultado de los experimentos "in vitro" pero no se han definido hasta el momento.

BIBLIOGRAFIA

1. KELVIN V. (1987) El síndrome de la inmunodeficiencia adquirida reto para la humanidad. Revista Farmacéutica Mexicana CANIFARMA México 6: 10-15.
2. MELMED R.N. (1983) Evolution of Care HIV. Bristol-Myers Squibb Company. México 1: 1-32.
3. BRAUN N. M., HEYWARD L. (1990) The global epidemiology the HIV infection and AIDS. Ann Rev. Microbiol. 44: 55-77.
4. DEVITA V.T., et al (1990) Treatment and prevention J.B. Second Edit. lippincot Co. East Washington Square, Philadelphia, Pennsylvania. pp 33-71/277-303.
5. GALLIN J. I. (1985) Acquired imunodeficiency syndrome (AIDS) advances in host defense mechanims. Raven press New York 2:77-85.
6. GENARO A.R., GRAFTON D. CH., MANDEROSIAN A.D., HARVEY S.C., HUSSAR D.A. (1990) Remington's Pharmaceutical Science Marck. Publihing Company Easton, 18th edition. Pennsylvania, pp 1237-1241.
7. ALDERSON T. (1993) New dirección for the antiretroviral chemoterapy of AIDS for the pharmaceutical , aproach to treatment. Biol. Rev. 68: 265-289.
8. SERRAINO D., FRANCESCHI S. TERELLI-U., MONFARDINI S. (1992) The epidemiology of acquired immunodeficiency syndrome and associated tumors in Europe. Ann Oncol. 3: 595-289.
9. OLIVARES L.F. (1993) Blood transfusion-associated AIDS. Salud Pública. México 35: 351-356.
10. RUIZ V.S. (1992) Cases in adolecence really exist. Boletín Med. Hop. Infant. México 49: 624-627
11. VELAZQUEZ O. M. Situación del SIDA en México hasta el 1 Febrero de 1989. Bol. Mens. SIDA 3:536-565.
12. GILLESPIE G.M., MARINO A. (1993) Oral manifestation of HIV infection a Panamerican Perspective. J. of Pathol. Med 22: 2-7.
13. FLORES C.M.S., SALINAS C. M. (1992) Antibodies against human T-cell lymphotropic virues in subjets at high risk for HIV in Monterrey. Rev. Invest. Clin. 44: 37-41.

14. LANGE J. M. (1988) Resistance HIV antigenemia and decline of HIV-1 on the CD4. *Science* 240: 1335-1339.
15. HASELIN W.A. (1986) The molecular biology of the AIDS virus. *Br. Med. J.* 293: 1459-1462.
16. SINOUSI B.F. (1985) Isolation of lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Science* 230: 868-870.
17. MOSS A. R. (1988) Seropositive for HIV and the development of AIDS or AIDS related condition. *Br. Med. J.* 296: 745-790.
18. JAMESON B. A. (1988) Location and chemical virus synthesis of binding site for HIV-1 on the CD4. *Science* 240: 1339-1341.
19. BUSH J. G. G. (1988) Human immunodeficiency virus (HIV) antigenemia p24 in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and the effect of treatment with zidovudine (AZT). *Ann Intern. Med.* 108: 175-180.
20. FAUCCI A.S. (1988) The human immunodeficiency virus infectivity and mechanisms of pathogenesis. *National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Science* 239: 617-622.
21. MITSUYA H. et al (1987) Strategies for antiviral therapy for the AIDS. *Nature* 325: 773-778.
22. YARCHOAN R. et al (1991) CD4 count and the risk for the death in patients infected with HIV receiving antiretroviral therapy. *Ann Intern Med* 115: 184-189.
23. ROSEN G.A. AND PAULAKIS G.N. (1990) Tat and Rev: positive regulators of HIV gene expression. *Editorial Review.* 4: 499-509.
24. DAVEY R.T., et al (1993) Plasma viremia as a sensitive indicator of the antiretroviral activity of L-697,661. *Ann Intern. Med.* 1988: 773-775.
25. ZAMORA L., et al (1992) Influence on survival of p24 antigen levels in patients with AIDS or advanced AIDS related complex treated with zidovudine. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis.* Dec, 11(12): 1181-1185.
26. JAMES B.A. (1988) Location and chemical synthesis of a binding site for HIV on the CD4 protein. *Science* 240: 1335-1339.
27. ORHOLM M. (1989) Suppression of p24 antigen in sera from HIV-infected individuals with low-dose alpha interferon and zidovudine. *A study AIDS* 8: 97-100.

28. MONTANER J. (1990) Zidovudine for early human immunodeficiency virus infection. *Ann.Int.Med.* 112(10): 721-723
29. GREENE W.C. (1991) The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Eng J. Med* 324: 308-316.
30. NORTHFELT W.D., et al (1988) The acquired immunodeficiency syndrome is a primary care diseases. *Ann. Inter. Med.* 109: 773-775.
31. KOSHIBA R., et al (1989) Inhibition of human immunodeficiency virus synergism by combination of 3'-azido-3'-deoxythymidine and forcarnet. *Antimicrob Agent Chemoter* 33: 778-780.
32. DORNISFE RE, et al (1991). Anti-human immunodeficiency virus synergism by zidovudine (3'-azidothymidine) and didanosine contrasts with their additive inhibition of normal human marrow progenitor cells. *Antimicrob Agents Chemoter* 35: 322-328.
33. LARDER B.A., et al (1989) HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science* 243: 1731-1734.
34. BOUCHER C. A., et al (1990) Zidovudine sensitivity of human immunodeficiency viruses from high-risk, symptom-free individual during therapy. *Lancet* 336: 585-590.
35. CHAISSON S. (1986) Significance changes in HIV antigen levels in the serum of patients treatment with azidothymidine. *N Engl J Med.* 315: 1610-1612.
36. RICHMAN D.D (1991) Antiviral therapy of HIV infection. *Ann. Rev. Med.* 42: 69-90.
37. WOLBERDING P.A. (1991) Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled trial in persons with fewer than 50 CD4-positive cells/mm³. *Ann. Intern. Med.* 115: 709-713.
38. MOORE R.D (1990) Long-term safety in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled trial in persons with fewer than 50 CD4-positive cells per cubic millimeter. *N. Eng. J. Med.* 322: 941-949.
39. BERGLUND O. (1991) Combined treatment of symptomatic human immunodeficiency virus type 1 infection with native interferon-alpha and zidovudine. *J. Infect. Dis.* 163: 710-715.
40. MOORE R.D. (1991) Zidovudine and the natural history of the acquired immunodeficiency syndrome. *N. Eng. J. Med.* 324: 1412-1416.

41. COLSON E.R. (1991) Zidovudine (AZT) for treatment of patient infected with human immunodeficiency virus type 1. An evaluation of effectiveness in clinical practice. Arch Intern Med 151: 709-713.
42. COX S. (1991) Sinergistic combination end peptide in the inhibition of human immunodeficiency virus. Adv. Enzyme. Regul. 31: 85-98.
43. CROWN S.M. (1990) Comparative assesment of retroviral human monocyte macrophages and Lymphoide cell lines acutely and chronically infected with the human immunodeficiency virus. J. Med. Virol. 29: 176-180.
44. DOUGLAS O. (1987) The toxicity of azidothymidine in the treatment of patients with AIDS and AIDS-Related Complex. A double-blind, placebo-controlled trial. The N Egn of Med 317: 192-197.
45. CREAGH T.K., et al (1988) Surviral experience among patients with AIDS recieving zidovudine. JAMA 260: 3009-3015
46. PINCHING A.J., Jeffries D. J. (1988) Therapy for HIV infection and AIDS. Br. Med. Bull 44: 115-129.
47. FISCHL M. A. (1989) State antiretroviral therapy with zidovudine. AIDS 3 (suppl 1): 5137-5143.
48. COLLIER A., et al (1990) Pilot of low-dose zidovudine in human immunodeficiency virus infection. N. Eng. J. Med. 323: 1015-1021.
49. VOLBERDING P. A., et al (1990) Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection: a controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic milimeter. N. Eng. J. Med. 322: 941-949.
50. ANONYMOUS (1989). Zidovudine in symptomless HIV infection. Lancet i: 415-416
51. WELLER I.V. (1989) The treatment of asytmomatic HIV infection: lessons from the zidovudine experience. AIDS 3 (suppl1): infection: lessons from the zidovudine experience. AIDS 3 (suppl1): 5215-5220.
52. JACKSON G.G., et al (1988) Human immunodeficiency virus (HIV) antigenemia (p24) in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and the effect of treatment with zidovudine (AZT). Ann. Intern. Med. 108: 175-180.

53. FISCHL M.A. (1987) The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS related complex. A double blind placebo-controlled trial. *N. Eng. J. Med.* 317: 185-187.
54. KAVESH N. G. (1989) Combined toxicity of azidothymidine and antimycobacterial agents. A retrospective study. *Am Rev Dis* 139: 1094-1097.
55. JHONSON V. A. (1989) Synergistic inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication in vitro by recombinated soluble CD4 and 3'-azido-3'-deoxythymidine. *J Infect Dis* 159: 837-844.
56. LANE H. C. (1989) Zidovudine in patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection and Kaposi Sarcoma: a phase II randomized, placebo-controlled trail. *Ann. Intern. Med.* iii-: 41-50.
57. MORRIS R., HOUSE A. (1989) Zidovudine in AIDS dementia complex. *Br. Med. J.* 299: 1218.
58. GILL P. S. (1987) Azidothymidine associated with bone marrow failure in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Ann. Intern. Med.* 107: 502-505.
59. KAMALY F. (1993) Clinical pharmacology of zidovudine and other 2', 3'-dideoxynucleoside analogues. *Clin-Investig* 71: 392-405.
60. DIMITROV D. H., et al (1993) Study of human immunodeficiency virus resistance to 2'-3'-dideoxynosine and zidovudine in sequential isolates from pediatric patients on long-term therapy. *J. Infect. Dis.* 67: 818-823.
61. CHOW Y.K., et al (1993) Use of evolutionary limitations of HIV-1 multidrug resistance to optimize therapy. *Nature* 361 650-654.
62. LANDER B.A. (1992) 3'-Azido-3'-deoxymidine resistance suppressed by a mutation conferring human immunodeficiency virus type 1 resistance to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob. Agents. Chemother* 36: 2664-2669.
63. JOHNSON V.A., et al (1991) Two-drug combination of zidovudine, didanosine, and recombinant interferon-alpha a inhibit replication of zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1 synergistically in vitro. *J. Infect. Dis.* 164: 646-655.
64. BACH M.C. (1990) Clinical response to dideoxinosine in patient with HIV infection resistant to zidovudine. *Am. J. Med.* 88: 85-105.

65. BRENDAN A., LARDER R., AND SHARON D.K. (1989) Multiple mutation in HIV-1 reverse transcriptase confer high-level resistance to zidovudine (AZT). *Molecular Science Department*; 242: 1155-1157.
66. BOUCHER C. A. B., et al (1993) Effects of discontinuations of zidovudine treatment on zidovudine sensitivity of human immunodeficiency virus type 1 isolates. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*; 37: 1525-1530.
67. RICHMAN D. D., et al (1991) Detections of mutations associated with zidovudine in human immunodeficiency virus type 1 strains. *Journal of Infectious Diseases*; 164: 1075-1081.
68. SHEEHY N. S. (1993) Sequence analysis of reverse transcriptase genes of zidovudine (AZT)-resistant and sensitive human immunodeficiency virus type 1 strains. *Journal General Virology*; 74: 223-228.
69. POKHOLOK D.K., SEVERIN O. G., et al (1993) Interaction of the HIV-1 reverse transcriptase AZT-resistant mutant with substrates and AZT-TP. *FEBS* 325: 237-241.
70. CHEN C.H., VAZQUEZ P.M., CHENG Y.C. (1991) Effect of anti-human immunodeficiency virus nucleoside analogs on mitochondrial DNA and its implication for delayed toxicity. *Mol Pharmacol*; 39: 625-628.
71. MERIGAN T.C. (1991) Treatment of AIDS with combination of antiretroviral agents. *Am. J. Med*; 90: 85-175.
72. MICHAEL J., ROBERT W., MARK A. (1993) A mutation in human immunodeficiency virus reverse transcriptase and decline in CD4 lymphocyte numbers in long-term zidovudine recipients. *The Journal of Infectious Diseases*; 167: 526-532.
73. FITZGIBBON J., et al (1992) AZT and DDC resistance mutation in HIV from a patient treated with both agents. *Program Abstr 32nd Intersci. Conf. Antimicrob. Agent Chemoter. Abstr* 574: 1203-1206.
74. KELLAM P., et al (1992) First mutation human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase contributes to the development of high-level resistance to zidovudine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1934-1938.
75. LANCEY S.F., et al (1992) Biochemical studies of the reverse transcriptase and RNase activities from human immunodeficiency virus strains resistant to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *J. Biol. Chem* 267: 1557-1559.

76. CLAR S.T., et al (1991) Resistance to DDI and sensitivity to AZT induced by a mutation in HIV-1 reverse transcriptase. Science; 1557-1559.
77. JOSEPH J. E. (1993) Pol mutation conferring zidovudine and didanosine resistance with different effects in vitro yield multiply resistant human immunodeficiency virus type 1 isolated in vitro. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 37: 1480-1487.
78. COFFIN JOHN M. (1990) Virology, D.M. Knipe et al Reven Press. 4d; Second Edition New York 1990.

GLOSARIO

NOMBRE	ABREVIATURA
Acido aspártico	Asp
Acido glutámico	Glu
Asparagina	Asn
Arginina	Arg
Alanina	Ala
Cisteina	Cis
Fenilalanina	Fen
Glutamina	Glu
Glicina	Gli
Histidina	His
Isoleucina	Ile
Leucina	leu
Lisina	Lis
Metionina	Met
Prolina	Pro
Serina	Ser
Tirosina	Tir
Treonina	Treo
Triptofano	Trp
Valina	Val
Acido Desoxiribonucleico	DNA
Acido Ribonucleico	RNA
Glicoproteinas	GP
Virus de la Inmunodeficiencia Adquirida	VIH

Transcriptasa Reversa

TR

Reaccion en cadena de la polimerasa

PCR