

Universidad Central de Venezuela  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Coordinación Postgrado

**Contaje de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.**

Cursante de Postgrado:

Lic. Yaraceli Márquez

Tutora: Lic. MSc Zulitza Pimentel

Maracay Febrero, 2016

**Contaje de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.**

Universidad Central de Venezuela  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Coordinación Postgrado

**Contaje de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Título de MAGISTER SCIENTIAURUM, en el Postgrado de Medicina Veterinaria, Mención Microbiología.

Cursante de Postgrado:

Lic. Yaraceli Márquez

Tutora: Lic. MSc Zulitza Pimentel

Asesores:

Lic. MSc. Ana María Urquiola, Dra. Sleygh Castillo y Prof. Jenny de Venanzi

Maracay Febrero, 2016

## Dedicatoria

*A Dios, por acompañarme en cada paso, por haberme permitido alcanzar esta meta, por llenarme de fortaleza e iluminar mi mente, por haber colocado en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo este tiempo.*

*A mi madre por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.*

*A mi padre por el valor mostrado para salir adelante, por cuidar siempre de mí. Gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto te lo debo a ti.*

*A mi hija Aracelis, mi pedacito de cielo, por haber llegado a iluminar nuestros días, eres mi motivación, inspiración y felicidad.*

*A mis hermanos y abuela por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar.*

*A mi esposo por estar conmigo en aquellos momentos en que el estudio y el trabajo ocuparon mi tiempo y esfuerzo, gracias por tu confianza y apoyo incondicional.*

## Agradecimientos

*En especial a mi Tutora y amiga Zulitza Pimentel por creer siempre en mí, por impulsarme a crecer cada día, por su apoyo, entrega y valiosos conocimientos que me permitieron alcanzar los objetivos de esta tesis.*

*A todo el comité asesor, en particular a la Licda. Ana María Urquiola por inducirme y motivarme a realizar esta maestría, por sus valiosas asesorías, conocimientos y comentarios que siempre estuvo dispuesta a brindarme.*

*Al equipo maravilloso de la Unidad Programática Regional de Inmunología Clínica del Hospital Civil por su valiosa colaboración, es especial a Norelys Colina por su ayuda incondicional.*

*Finalmente a todas aquellas personas, colegas y amigos que me brindaron su apoyo, tiempo e información para el logro de mis objetivos.*

**Contaje de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.**

**RESUMEN**

Las personas infectadas con VIH corren el riesgo de confección con otros virus que comparten un patrón similar de transmisión, entre estos tenemos el HTLV 1/2 y el VHB. Los pacientes con infección crónica por el VHB presentan un estado persistente de activación inmunitaria que, junto con un efecto directo de ciertas proteínas virales, podría favorecer la replicación del VIH. Esto podría dar lugar a una disminución más rápida de la cifra de linfocitos TCD4<sup>+</sup> con una mayor progresión a SIDA. Por otro lado la inmunopatogénesis por HTLV-1 es intrigante ya que, su persistencia durante toda la vida en los linfocitos T CD4 determina una interacción prolongada entre el virus y el sistema inmune, que puede dar como resultado un amplio espectro de enfermedades asociadas con el HTLV-1. Se evaluaron un total de 364 pacientes recién diagnosticados a la prueba VIH y confirmatorio que acudieron a la UPRIC en el periodo agosto 2012 - agosto 2013 con edades comprendidas entre los 16 a 68 años. La presencia de infección activa por VHB se observó en un 2,7% (10/364 muestras) de los pacientes infectados por VIH recién diagnosticados (estado basal), lo cual se evidenció por la detección del HBsAg y HBcAc en la muestra estudiada. Se obtuvo evidencia de infección pasada por el VHB en el 16,8% (61/364) de las muestras analizadas definida por la presencia del HBcAc y ausencia del HBsAg. Con respecto a la coinfección VIH-HTLV1/2; no se encontró y/o detectó ningún paciente. No hubo diferencias significativas entre los grupos considerados, estos resultados se explican fácilmente al observar no solo los valores promedios cercanos entre sí, sino además por la fuerte heterogeneidad o elevada varianza de las variables estudiadas. Debido al bajo porcentaje de pacientes coinfectados VIH/VHB obtenido es necesario realizar estudios longitudinales que permitan evaluar ampliamente el efecto ejercido entre ambos virus.

**Palabras claves:** Coinfección, Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1, Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.

**Count lymphocyte T and viral load for Human Immunodeficiency Virus Type 1  
co-infected patients T-cell lymphotropic Virus and Hepatitis B Virus**

**SUMMARY**

People infected with HIV are at risk of making other viruses that share a similar pattern of transmission; among these are the HTLV 1/2 and HBV. Patients with chronic HBV infection have a persistent state of immune activation, with a direct effect of certain viral proteins, could favor HIV replication. This could lead to a more rapid decrease in the number of CD4 + lymphocytes with increased progression to AIDS. Furthermore immunopathogenesis HTLV-1 is intriguing since their persistence throughout life in CD4 T cells determines a prolonged interaction between the virus and the immune system, which can result in a broad spectrum of diseases associated with HTLV-1. August 2013 aged 16 to 68 years - a total of 364 patients with newly diagnosed HIV test and confirmatory attending the UPRIC in the period August 2012 were evaluated. The presence of active HBV infection was observed in 2.7% (10/364 samples) of patients newly diagnosed HIV-infected (baseline), which was evidenced by the detection of HBsAg and HBcAc in the sample studied. Evidence of past infection with HBV 16.8% (61/364) of the samples defined by the presence and absence of the HBsAg HBcAc was obtained. Regarding HIV-HTLV1 / 2 coinfection; He was not found and / or detected any patient. There were no significant differences between the groups considered, these results are easily explained by looking not only mean values close to each other, but also by strong heterogeneity or high variance of the variables. Due to the low percentage of coinfecting patients HIV / HBV obtained are needed longitudinal studies to evaluate the effect exerted widely between the two viruses.

**Keywords: Coinfection, human immunodeficiency virus type 1 T-cell lymphotropic and Virus Hepatitis B Virus**

**INDICE GENERAL**

INTRODUCCIÓN	
1. Objetivos	
1.1 Objetivo general	8
1.2 Objetivos específico	8
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1 Antecedentes de la investigación	9
2.2 Bases Teóricas	13
2.2.1 Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)	13
2.2.2 Mecanismo de transmisión	17
2.2.3 Replicación y ciclo infectivo	17
2.2.4 Patogenia y patología	21
2.2.5 Epidemiología	26
2.2.6 Métodos diagnósticos	27
2.2.7 Estado celular en infección por VIH	31
2.2.8 Carga viral	32
2.2.9 Virus Hepatitis B (VHB)	35
2.2.10 Estructura y replicación	36
2.2.11 Mecanismo de transmisión	37
2.2.12 Patogenia y patología	38
2.2.13 Métodos diagnósticos	45
2.2.14 Coinfección HIV/VHB	47
2.2.15 Virus linfotrópico de células T en humanos (HTLV)	49
2.2.16 Estructura	50
2.2.17 Mecanismo de transmisión	53
2.2.18 Replicación y ciclo infectivo	54
2.2.19 Patogenia y patología	57
2.2.20 Epidemiología	65
2.2.21 Métodos diagnósticos	66
2.2.22 Coinfección VIH/HTLV	68
3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	70
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Tipo y diseño de la investigación	71
3.2 Población y Muestra	71
3.3 Procedimiento	73
3.4 Procesamiento de los datos	77
3.5 Análisis de Datos	77
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	78
CONCLUSIONES	96
RECOMENDACIONES	98
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
APÉNDICE	111

## LISTA DE TABLAS

1	Casos Nuevos Reportados según sexo. Venezuela 1997-2009	27
2	Perfiles serológicos de la infección crónica con el VHB y escenarios de reactivación del VHB	46
3	Formas de presentación clínica de leucemia / linfoma de células T del adulto	62
4	HTLV-1 asociado a enfermedades y síndromes	63
5	Correlación entre las enfermedades asociadas con el HTLV-1 y las manifestaciones clínicas más comunes	65
6	Distribución de la edad según el sexo de pacientes que acudieron a la UPRIC	79
7	Frecuencia de confección VIH/VHB	81
8	Estadísticos descriptivos clasificados por grupo	84
9	Correlaciones de Spearman de las variables consideradas y el conteo de linfocitos CD4	89
10	Distribución de los recuentos de linfocitos T e inmunofenotipificación, de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC	90
11	Distribución de los recuentos de linfocitos T CD4+ por grupo etareo de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC	91
12	Carga viral con valores >500.000 y conteo de linfocitos T e inmunofenotipificación, de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC	93

## LISTA DE FIGURAS

1	Esquema general de la estructura de la partícula de VIH-1	16
2	Ciclo de replicación del VIH	19
3	Evolución de los parámetros virológicos e inmunológicos en la infección por el VIH	25
4	Marcadores virológicos y serológicos durante las primeras semanas después infección por el VIH-1	28
5	Respuesta inmune contra el VHB	39
6	Infección aguda por VHB	41
7	Progresión de la infección por VHB crónica	42
8	Estructura del genoma de HTLV-1	52
9	Tecnología del ADN ramificado	75
10	Contaje de linfocitos TCD4+ promedio clasificada por grupo	85
11	Carga viral promedio clasificada por grupo	85

## Lista de abreviaturas

**HIV:** Virus de Inmunodeficiencia Humana

**SIDA:** Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

**HTLV 1/2:** Virus Linfotrópico de Células T 1/2

**VHB:** Virus Hepatitis B

**HBsAg:** Antígeno de superficie del Virus Hepatitis B

**HBcAg:** Antígeno central o core del Virus Hepatitis B

**HBeAg:** Antígeno e del Virus Hepatitis B

**HBsAc:** Anticuerpo contra el antígeno de superficie del Virus Hepatitis B

**HBcAc:** Anticuerpo contra el core del Virus Hepatitis B

**HBeAc:** Anticuerpo contra el antígeno e del Virus Hepatitis B

**ALLT:** Leucemia/linfoma de células T adultas.

**TSP:** Paraparesia espástica tropical.

**HAM:** Mielopatía asociada a HTLV-1.

**UPRIC:** Unidad Programática Regional de Inmunología Clínica.

## **INTRODUCCIÓN**

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un miembro del género Lentivirus, familia Retroviridae. Se caracteriza por presentar un genoma de ARN de cadena simple, el cual requiere ser convertido a ADN complementario para luego ser integrado al genoma del hospedero (Brooks y cols., 2011; Zhou y Saksena, 2013). El VIH se transmite principalmente por contacto sexual con una persona infectada, por compartir jeringas (fundamentalmente por uso de drogas intravenosas) o mediante transfusiones sanguíneas a partir de individuos infectados. Los hijos de madres portadoras pueden infectarse durante el nacimiento o al ser alimentados con leche materna (Valer *et al.*, 2003).

El Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (más conocido por el acrónimo ONUSIDA) (2012), estima que a nivel mundial hay 34,0 millones de personas que viven con VIH a finales del 2011. Para dicho año el número de nuevas infecciones (adultos y niños) por VIH fue de 2,5 millones un 20% inferior al año 2001. Los mayores descensos en el número de personas a adquirir la infección por el VIH desde 2001 se han producido en el Caribe (42%) y África subsahariana (25%).

En Venezuela se diagnosticó el primer caso de VIH/SIDA en el año 1982, notificándose hasta el año 2009, alrededor de 89.875 casos. A pesar que el reporte es obligatorio desde el año 1987, los datos aportados por las coordinaciones regionales del programa nacional de SIDA/ITS presentan subregistro (MPPS, 2010).

El VIH tiene un tropismo selectivo para las células que expresan CD4<sup>+</sup> marcador fenotípico de: linfocitos T, monocitos y macrófagos (Admou *et al.*, 2010). La infección por este virus causa disminución del tiempo de supervivencia y deterioro de la producción de células TCD4<sup>+</sup>, con su declinación progresiva en sangre periférica dando como resultado la inmunosupresión. La velocidad a la que

las células TCD4<sup>+</sup> declinan es uno de los marcadores de la progresión de la enfermedad por el VIH. Las directrices actuales para determinar cuándo iniciar la terapia antirretroviral hacen hincapié en el recuento de células TCD4<sup>+</sup> y el monitoreo de la enfermedad por VIH. Por lo tanto, el grado de inmunosupresión y la probabilidad de desarrollar complicaciones relacionadas con el SIDA en personas infectadas por el VIH suelen medirse por el número absoluto de células TCD4<sup>+</sup> (Forbi *et al.*, 2010). Es por ello que el CDC (Centers for Disease Control and Prevention, U.S.), clasifica a las personas infectadas con el VIH según dos criterios, uno clínico y otro basado en el recuento absoluto de linfocitos TCD4<sup>+</sup> (Jaldín *et al.*, 2008).

Escobar *et al.* (2011), establecen como ejemplo de las pruebas realizadas en los últimos años para comprobar el estado de salud de estos pacientes, el conteo de linfocitos TCD4<sup>+</sup> y la carga viral, los cuales son considerados como marcadores de prevención, evolución y pronóstico de la infección por VIH/SIDA

Las personas con VIH corren el riesgo de coinfección con otros virus que comparten un patrón similar de transmisión. Entre estos tenemos el Virus de la Hepatitis B (VHB) y el virus linfotrópico de células T humanas (HTLV 1/2).

Las infecciones por el VIH y por el VHB siguen siendo uno de los principales problemas de salud pública a escala mundial. Se estima que un 6-10% de los sujetos con infección por VIH tienen infección crónica por el VHB. En los últimos años, la coinfección por el VHB ha generado una causa importante de morbilidad y mortalidad entre los pacientes VIH positivos. En toda Europa, aproximadamente el 9% de los pacientes VIH positivos están coinfectados con el VHB ((Toro *et al.*, 2006 y Geretti *et al.*, 2010).

En todo el mundo, el 90% de las personas infectadas con VIH han presentado signos biológicos de una infección previa por VHB definida por la presencia en suero de Anticuerpo contra el core del Virus Hepatitis B (HBcAc) y el

5%-15% sufren infección crónica definida por la presencia del Antígeno de superficie del Virus Hepatitis B (HBsAg) por más de seis meses (Lacombe *et al.*, 2010).

La relevancia de la coinfección VIH/VHB, desde el punto de vista clínico, reside principalmente en 3 aspectos: a) la mayor gravedad del daño hepático por el VHB en pacientes infectados por el VIH; b) el incremento del riesgo de hepatotoxicidad debido al empleo de fármacos antirretrovirales, y c) la posibilidad de utilizar antirretrovirales activos frente a ambos virus (Toro *et al.*, 2006).

De igual forma los pacientes coinfectados VIH/VHB que se encuentran en un mayor riesgo de desarrollar cirrosis, son los que tengan mayores niveles de replicación del VHB, presenten una menor tasa de resolución espontánea de la infección por el VHB, y posean un mayor riesgo de reactivación de infecciones previas (Olufemi *et al.*, 2009).

En lo que respecta al papel de la coinfección en la evolución de la infección por el VHB, los pacientes coinfectados presentan un mayor riesgo de cronicidad del VHB, menor tasa de seroconversión espontánea del HBsAg, del antígeno e del Virus Hepatitis B (HBeAg) y valores de ADN del VHB más elevados. Sin embargo, la prevalencia de la hepatitis crónica HBeAg negativa, así como el estado de portador inactivo, son menores en los pacientes VIH positivos (Toro *et al.*, 2006).

El impacto que la infección por HBV tiene sobre la evolución natural de la infección por HIV es aún controversial (Laufer *et al.*, 2007). Los pacientes con infección crónica por el VHB presentan un estado persistente de activación inmunitaria que, junto con un efecto directo de ciertas proteínas virales, podría favorecer la replicación del VIH. Esto podría dar lugar a una disminución más rápida de la cifra de linfocitos TCD4<sup>+</sup> con una mayor progresión a SIDA. Los estudios clínicos realizados que examinan el impacto del VHB sobre la progresión del VIH han mostrado resultados contradictorios, la mayoría no ha observado que

la coinfección se asocie a un peor curso de la enfermedad por VIH (Toro *et al.*, 2006).

La influencia de la infección por VIH en la evolución de la hepatitis B tiene aspectos más claros, habiéndose observado una incidencia menor de enfermedad ictericia y una tasa de portación crónica del 25% (comparado con el 5% de los pacientes inmunocompetentes). La inmunosupresión inducida por el VIH podría ser la causa de una respuesta inmune alterada, que determina una menor lesión hepática y explicaría los valores disminuidos de transaminasas que se observan en esta población (Laufer *et al.*, 2007).

La coinfección VIH/VHB modifica la evolución de ambas enfermedades. Para el VHB la tasa de cronicidad es más alta así como la replicación viral, con una tasa más baja de pérdida espontánea del HBsAg y de conversión del anticuerpo contra el Antígeno de superficie del VHB (HBsAc), con un aumento de la frecuencia en cirrosis y muerte (MPPS, 2008).

El diagnóstico de la coinfección por VHB en personas VIH positivas son de suma importancia debido a las consecuencias subyacentes, tales como los problemas hepatológicos asociados con estos virus, que han demostrado disminuir la esperanza de vida en los pacientes infectados por el VIH (Saravanan *et al.*, 2007).

El objetivo ideal es lograr la erradicación viral definitiva y disminuir el riesgo de progresión de la inflamación y fibrosis hepática. Estos objetivos son difícilmente alcanzables en la mayoría de los pacientes, por lo que un objetivo más realista es mantener la replicación viral controlada en un nivel que disminuya la inflamación hepática y reduzca el riesgo de progresión del daño hepático (MPPS, 2008).

Por otro lado tenemos la infección por HTLV-1 con una inmunopatogénesis que es intrigante ya que, su persistencia durante toda la vida en los linfocitos T

CD4 determina una interacción prolongada entre el virus y el sistema inmune, que puede dar como resultado un amplio espectro de enfermedades asociadas con el HTLV-1 (Goncalves *et al.*, 2010).

El HTLV-1 es un retrovirus que infecta principalmente a células T CD4<sup>+</sup> induce la producción elevada espontánea de citoquinas Th1, como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e interleucina 2 (IL-2) (Gaspar *et al.*, 2010). El HTLV-I está asociado con leucemia/linfoma de células T adultas (ALLT) y paraparesia espástica tropical (TSP) o mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM) (Brites *et al.*, 2011).

La inmunopatogénesis de este retrovirus es intrigante, ya que su persistencia durante toda la vida en los linfocitos CD4<sup>+</sup> determina una interacción prolongada entre el virus y el sistema inmunológico, que puede dar lugar a un amplio espectro de enfermedades asociadas con el HTLV-1. Esto puede estar relacionado con la acción directa del virus sobre el sistema inmune o una consecuencia de la respuesta del sistema inmune al virus (Goncalves *et al.*, 2010).

Existe cierta evidencia que sugiere que la doble infección por el VIH/HTLV puede alterar la clínica en el curso de SIDA, pero el impacto real de la coinfección de los pacientes con SIDA aún no se ha determinado (Brites *et al.*, 2011).

La influencia de HTLV-1 en la progresión de la enfermedad del VIH ha estado estrechamente vinculada, no sólo a varios eventos moleculares sino a su potencial para inducir altos niveles de activación inmune. Aunque los mecanismos por los cuales la activación crónica inducida por HTLV-1 podría afectar a la progresión al SIDA no se conocen, hemos aprendido de la historia natural de la infección por VIH donde la activación crónica del sistema inmune desencadena una serie de eventos moleculares relacionados con la pérdida de células T CD4<sup>+</sup>. En este contexto, el HTLV-1 induce una activación inmune fuerte que se ha asociado a la inmunosupresión, falta de respuesta y desregulación inmune (Samo

*et al.*, 2009). La coinfección VIH/HTLV-1 se asocia con un aumento del recuento de linfocitos T CD4<sup>+</sup>, lo que complica la decisión de cuándo comenzar el tratamiento (Tienen *et al.*, 2011).

Un curso acelerado de una infección por VIH-1 se ha reportado en hombres que tienen sexo con hombres coinfectados con HTLV-1. Este hallazgo del aumento de la patogenicidad del VIH es apoyado por datos de estudios *in vitro*, que han demostrado que los productos de genes del HTLV-1 aumentan la liberación de partículas del VIH-1. Por el contrario, se ha informado un lento agotamiento de células T CD4<sup>+</sup> en sujetos coinfectados con VIH-1 y HTLV-2. Varias explicaciones se han propuesto que podrían ser responsables para este efecto protector del HTLV-2 en la patogénesis del VIH. En primer lugar, el tropismo celular diferente del HTLV-2 en relación con el HTLV-1, es decir, que el primero infecta preferiblemente a linfocitos T CD8<sup>+</sup>, y el último infecta células T CD4<sup>+</sup>, al igual que el VIH-1. En segundo lugar, las proteínas del HTLV-2 pueden tener un efecto inmunomodulador, el aumento de la síntesis de IFN- $\gamma$ . Finalmente, el HTLV-2 puede ejercer un efecto protector sobre la progresión de la enfermedad del VIH mediante la inducción en la producción de las quimiocinas (Bassani *et al.*, 2007).

La preocupación por la evolución clínica, como resultado de la coinfección por HTLV-1 y el VIH ha adquirido una especial relevancia en los últimos años, frente a la creciente evidencia que muestran que: a) la coinfección es frecuente en varias regiones geográficas en el sur de África b) se ha demostrado que los pacientes coinfectados presentan linfocitos TCD4<sup>+</sup> estables con independencia de su progresión a SIDA, que por cierto podría enmascarar la inmunosupresión con la consiguiente inadecuada decisión en cuanto al inicio de la terapia antirretroviral y la profilaxis a las infecciones oportunistas. La situación ha de ser agravada por el hecho de que ni cura ni tratamiento efectivo está todavía disponible para la

infección por HTLV de tal manera que los especialistas no cuentan con herramientas para controlar los efectos ejercidos por el virus (Samo *et al.*, 2009).

La doble infección VIH-1 y HTLV-1 ha sido descrita principalmente en los países africanos y sudamericanos, también en Europa en grupos de pacientes con alto riesgo (trabajadores sexuales y usuarios de drogas intravenosas). Ya sea que la coinfección por HTLV-1 lleve a una progresión más rápida de la enfermedad en la infección por VIH y que su efecto sea la mortalidad no está claro, debido a que la mayoría de los estudios de corte transversal carecían de grupos de control (Tienen *et al.*, 2011). Es por ello que la comprensión del impacto de la infección por HTLV y VHB sobre la progresión del VIH permitirá un enfoque racional en la gestión de las personas coinfectadas donde se podrían replantear los esquemas para el tratamiento del VHB y del VIH y de esta forma maximizar la potencia, minimizar la resistencia y evitar la hepatotoxicidad atribuida por fármacos

En la Unidad Programática Regional de Inmunología Clínica (UPRIC) se realiza el control y pronóstico (previa prueba confirmatoria) de los pacientes VIH positivos a través del recuento de linfocitos TCD4<sup>+</sup> y determinación de carga viral VIH-1, indispensables para el monitoreo del paciente seropositivo. De igual forma, se cuenta con el perfil serológico donde se evalúa el HBsAg y HBcAc además de otros parámetros que permiten conocer el estado de coinfección con otros patógenos en dichos pacientes. En Venezuela, no se han reportado estudios sobre el estado celular y carga viral en los pacientes que viven con VIH coinfectados con HTLV 1/2 y/o VHB, los cuales son de gran importancia debido a las consecuencias subyacentes que han demostrado disminuir la esperanza de vida en los pacientes infectados por el VIH.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el conteo de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.

Objetivos específicos:

Determinar el conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> por citometría de flujo a pacientes coinfectados y a pacientes sin coinfección.

Determinar carga viral VIH-1 a través del método bDNA System a pacientes coinfectados y a pacientes sin coinfección.

Comparar el comportamiento del conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> y carga viral VIH-1 en pacientes coinfectados y en pacientes sin coinfección mediante el análisis estadístico

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1 Antecedentes de la investigación

El efecto de la infección por el VIH sobre la historia natural de infecciones hepáticas está bien reconocido en diferentes series internacionales. Tal asociación se caracteriza por acelerar la replicación viral en el hígado y la progresión a hepatitis crónica, cirrosis y enfermedad hepática terminal.

En un centro urbano en Nigeria se llevó a cabo un estudio prospectivo y retrospectivo de los pacientes VIH positivos vistos en la clínica del Hospital Nacional de Abuja. Se determinó la seroprevalencia del VHB y virus hepatitis C (VHC) en los pacientes con infección por VIH. El estudio incluyó datos sobre 260 pacientes atendidos en dicho centro. Para el VHB el marcador fue HBsAg y para el VHC el marcador era anti-VHC. Además, se recuperaron y analizaron los resultados de otras pruebas, tales como el recuento de linfocitos TCD4, enzimas hepáticas, y el perfil lipídico. De los pacientes estudiados 30 (11,5%) dieron positivo para HBsAg, 6 (2,3%) para anticuerpos contra VHC y 4 (1,5%) fueron positivas para ambos. Por otra parte, los grupos difirieron significativamente en su recuento de linfocitos TCD4+, donde los sujetos coinfectados por el VHC tuvieron el mayor valor de 260 células/mm<sup>3</sup>. Los sujetos con sólo VIH y las personas coinfectadas con VIH/VHB tenían un recuento medio de linfocitos TCD4+ de 171 células/mm<sup>3</sup> y 121 células/mm<sup>3</sup>, respectivamente. La prevalencia general fue de 15,4% y la del VHB en esta cohorte de pacientes VIH positivos fue del 11,5% estableciendo que la coinfección con el VHB es común entre los pacientes infectados por VIH (Olufemi *et al.*, 2009).

Otro de los estudios realizados en Nigeria donde evaluaron el impacto de la infección por virus de la hepatitis B en respuesta a la terapia antirretroviral del VIH. Se estudiaron 1.564 individuos infectados por el VIH quienes iniciaron tratamiento antirretroviral. Todos los participantes infectados por el VHB fueron evaluados con

HBeAg, HBeAc y ADN del VHB basal. La carga viral, el conteo de linfocitos T CD4+ y alanina transaminasa se determinaron al inicio del estudio, en la semana 24 y 48 después de la terapia antirretroviral. El recuento de células T CD4+ de los pacientes coinfectados por el VHB 262 (16,7%) fue de 107 células/ml frente a 130 células/ml en los mono infectados por VIH ( $p < 0,001$ ) en el inicio de la terapia antirretroviral. Los pacientes coinfectados VIH/VHB también tuvieron una mayor carga viral del VIH que los sujetos VIH mono infectados (4,96 frente a 4,75 log<sub>10</sub> copias/ml,  $p=0,02$ ). En un modelo multivariado, los sujetos HBeAg positivos tenían menos probabilidades de suprimir la replicación del VIH de  $\leq 400$  copias/ml a las 24 semanas. Los investigadores establecieron que en los individuos nigerianos coinfectados por VHB, especialmente aquellos con altos niveles de replicación del VHB, se asociaron con un menor recuento de células T CD4+ en la terapia antirretroviral de inicio independiente del nivel de ARN del VIH. Los sujetos con HBeAg positivo tuvieron una respuesta virológica lenta a la terapia antirretroviral y que es necesario seguir trabajando para comprender los efectos de la hepatitis B en células T CD4+ (Idoko *et al.*, 2009).

Por otro lado los resultados de Pseudos *et al.* (2010), demostraron que el aumento basal del recuento de células T CD4+ se asoció significativamente con la pérdida de HBsAg en pacientes coinfectados con VIH/VHB. Se revisaron retrospectivamente los registros médicos de 5681 pacientes VIH seguidos en la Ciudad de Nueva York entre enero de 1999 hasta mayo 2007. Los parámetros de laboratorio, en estado basal y seguimiento de carga viral, recuento de linfocitos T CD4+, niveles de alanina aminotransferasa, la presencia de infección de virus hepatitis C y el tratamiento con antirretrovirales de gran actividad contra el VIH y la infección por el VHB fueron analizadas para determinar los factores asociados con pérdida de HBsAg. Trescientos cincuenta y cinco pacientes (6,84%) estaban coinfectados con el VIH y el VHB. De estos pacientes solo 226 se les pudo hacer

seguimiento durante 12 meses y se incluyeron en el análisis para determinar los factores asociados con la pérdida de HBsAg en el seguimiento a largo plazo. El análisis de regresión de Cox reveló que la pérdida de HBsAg se asocia con un recuento basal de células T CD4+ >500 células/mm<sup>3</sup> (P= 0,016, odds ratio: 76,174, 95% intervalo de confianza). El estudio mostró una asociación interesante de la pérdida de HBsAg en los pacientes coinfectados VIH/VHB con un mayor recuento de células TCD4+. Se cree que la respuesta de estas células juegan un papel crítico en mantener el funcionamiento activo de los linfocitos T citotóxicos, que ayudan en la liberación de citocinas antivirales.

En el mismo orden de ideas Polo *et al.* (2010), establecieron la frecuencia de la infección por Hepatitis B en los pacientes VIH positivos atendidos en la Vital salud de Barranquilla, Colombia. Para ello se realizó un perfil serológico para VHB en los pacientes VIH positivos, consistente en: HBsAg, HBcAc gG. La coinfección VIH/VHB resultó en 103 pacientes, la mediana del recuento de linfocitos TCD4+ de ingreso fue de 248 y el promedio fue de 297,3. Hubo una prevalencia del 3,1% (tres pacientes) con Hepatitis B crónica, los cuales eran hombres dos heterosexuales y un homosexual. Estos pacientes se les confirmó el resultado con la repetición del HBsAg, con más de seis meses de diferencia entre los reportes. Sólo a dos de estos pacientes se les pudo realizar carga viral para VHB, obteniéndose un resultado positivo inicial de 1142 copias/ml, en un paciente que no estaba recibiendo Lamivudina al momento del examen. Hubo 14 pacientes con títulos protectores de HBsAc (13,6%) y 83 pacientes tuvieron HBsAg y HBcAc IgG negativos.

Con respecto a la coinfección por HTLV Turci *et al.* (2006), seleccionaron un total de 3.574 usuarios de drogas intravenosas de distintos lugares en toda Italia. De ellos, 2371 pacientes resultaron positivos al VIH-1 y 159 fueron positivos para HTLV-II, resultando una tasa de coinfección VIH-1/HTLV-II del 6,7%. Para analizar

si existía relación entre la coinfección y la progresión del SIDA, 2 grupos de estudio de usuarios de drogas intravenosas fueron controlados durante una media de 13 años. Uno de los grupos consistió en 437 sujetos mono infectados VIH-1, y el segundo grupo incluyó a 96 sujetos coinfectados HIV-1/HTLV-2. En comparación con los pacientes mono infectados por VIH-1, los recuentos de células TCD4+ y TCD8+ fueron significativamente más altos en los pacientes coinfectados por VIH-2/HTLV-2, los investigadores fueron capaces de identificar un subgrupo con las características típicas que los definen como no progresores para SIDA a largo plazo. Este subgrupo fue representado por 21 pacientes con recuentos de 500 células/ml y una viremia de VIH estable lo cual hizo que no desarrollaran infecciones oportunistas o que exigieran el tratamiento con antirretrovirales durante un período de seguimiento de al menos 10 años. Los datos apuntan a un papel protector de la infección por HTLV-2 mediante la prevención de la pérdida de células T CD4 y retrasar la progresión del SIDA en algunos individuos coinfectados.

Por otro lado Beilke *et al.*, (2004) entre marzo del 1993 hasta septiembre del 2002 evaluaron 3600 infectados por VIH que ingresaban al cuidado de la clínica con pruebas para HTLV-1/2 por EIA (Abbott Laboratories) que detecta anticuerpos tanto HTLV-1 como HTLV-2. Posteriormente realizaron el análisis de Western Blot para confirmar y diferenciar la infección por HTLV-I y HTLV-2. Los pacientes fueron estratificados en 3 grupos: pacientes mono infectados por VIH (824), pacientes coinfectados VIH/HTLV-I (62), y pacientes coinfectados VIH/HTLV-2 (141). Para el análisis estadístico se hicieron comparaciones entre los pacientes coinfectados y el grupo control de sujetos mono infectados por VIH con respecto a las características demográficas basales y clínicas utilizando la prueba de  $\chi^2$ , la prueba exacta de Fisher, de Mann-Whitney y la prueba del análisis de la varianza, según sea el caso. El análisis arrojó que los pacientes coinfectados eran más propensos a tener complicaciones neurológicas, trombocitopenia, infecciones

respiratorias y del tracto urinario. A pesar de tener mayores recuentos de células T CD4+ en el tiempo, no hubo diferencia en la incidencia de infecciones oportunistas. En conclusión, la coinfección VIH-HTLV-1/2 puede dar lugar a una mayor supervivencia y retraso en la progresión al SIDA, pero esto sucede en expensas de un aumento de la frecuencia de otras complicaciones clínicas.

## 2.2 Bases Teóricas

### 2.2.1 Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)

El VIH se clasifica en dos tipos: VIH-1 y VIH-2 que tienen un 40-50% de homología genética y una organización genómica similar. El VIH-1 es el causante de la pandemia mundial de SIDA mientras que el VIH-2, aunque también puede producir SIDA, se considera menos patogénico y menos transmisible (Delgado, 2011). Las infecciones por lentivirus muestran típicamente un curso de la enfermedad crónica, con un largo período de latencia clínica, replicación viral persistente y participación del sistema nervioso central (Fanales *et al.*, 2010).

Una de las características de la replicación de los retrovirus y en particular del VIH-1 es su gran capacidad de variabilidad. El proceso de retro transcripción tiene una relativa alta tasa de error (1 de cada 10<sup>4</sup> nucleótidos) a lo que se añade la facilidad para la recombinación de fragmentos genómicos si varias partículas infectan la misma célula. Si consideramos que en un paciente infectado se producen 10<sup>10</sup>-10<sup>12</sup> partículas diarias, las posibilidades de que ocurra un cambio en una posición determinada son muy altas. El VIH-1 se caracteriza por una elevada heterogeneidad genética lo que favorece que en la población de virus de un mismo individuo existan genomas relacionados entre sí, pero no idénticos y que se conocen como cuasiespecies víricas (Delgado, 2011). La variabilidad es el arma

más poderosa del VIH, que permite que el virus pueda superar la inmunidad del huésped y los efectos de la terapéutica (medicamentos) y profilácticos (vacunas) (Fanales *et al.*, 2010).

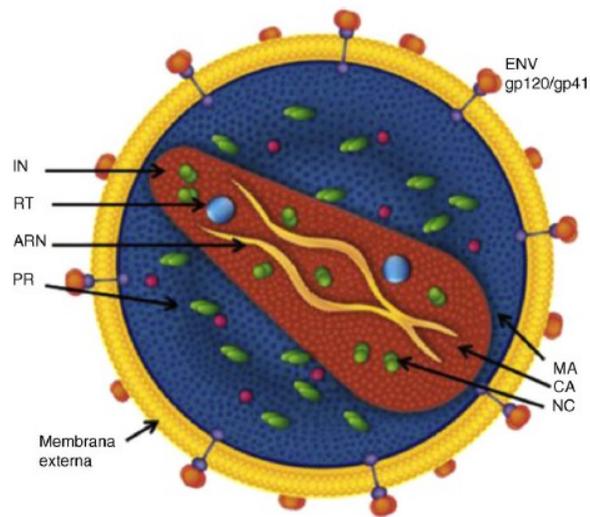
Debido a la alta variabilidad de su genoma, el VIH ha dado origen a diferentes grupos genéticos. Así por ejemplo el VIH-1 está dividido en tres grupos: el grupo M (del inglés main o principal), el O (del inglés outlier) y el recientemente descrito N (de new o nuevo) (Yábar, 2003). El grupo M se ha dividido en 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J, K) y en cepas recombinantes entre ellos, denominados formas recombinantes circulantes. Las formas recombinantes circulantes se forman por recombinación de fragmentos genómicos de distintos subtipos. Actualmente se han descrito más de 30 CRF y su número se incrementa constantemente (Delgado, 2011).

En términos de prevalencia en todo el mundo, el subtipo B es el más prevalente en América, Japón, Australia, el Caribe y Europa; los subtipos A y D predominan en el Africa Subsahariana, el subtipo C se encuentra más frecuentemente en Sudafrica y la India, mientras que el subtipo E lo es en la República Central Africana (Yábar, 2003). VIH-2 es endémico en África occidental, pero se ha extendido de Europa (especialmente España) y la India (Fanales *et al.*, 2010).

La morfología del VIH de acuerdo con las microfotografías electrónicas es icosaédrica provista de numerosas proyecciones. Presenta una cápside, la cual está cubierta por una membrana de bicapa fosfolipídica que el virus obtiene a partir de la célula hospedera a través del mecanismo de esporulación o escape hacia el medio extracelular. En la superficie de la membrana se encuentran embebidas proteínas estructurales denominadas proteínas de la envoltura. Entre ellas figuran dos glicoproteínas de 120 y 41 kDa de peso molecular denominadas gp120 y gp41. Estas proteínas son las responsables en reconocer a los receptores

CD4 de los linfocitos así como también diversos ligandos de la célula a ser infectada, que en su conjunto permitirán el ingreso e internalización del VIH (Yábar, 2003). La estructura y funcionalidad de Env son claves para entender aspectos importantes de la biología del VIH-1, tales como la interacción con receptores celulares (tropismo) y la evasión inmune (Delgado, 2011).

El genoma del retrovirus se compone de dos copias idénticas de una sola molécula de ARN y se caracteriza por la presencia estructural de genes gag, pol, env. El VIH-1 y el VIH-2 difieren en la organización de su genoma, aunque la estructura básica (es decir, la presencia de los tres genes estructurales, gag, pol y env) es el mismo que el de todos los retrovirus. De hecho, además de contar con estos tres genes, el VIH-1 y el genoma del VIH-2 presentan una compleja combinación de otros organismos reguladores/genes accesorios. Al igual que otros retrovirus, el gen gag codifica las proteínas estructurales del núcleo (p24, p7, p6) y la matriz (p17) y el gen env codifica la envoltura viral glicoproteínas gp120 y gp41, que reconocen receptores de superficie celular. El gen pol codifica para enzimas esenciales para la replicación viral, que son la transcriptasa inversa que convierte el ARN viral en ADN, la integrasa, que incorpora el ADN viral en el ADN cromosómico del huésped (provirus) (Fanales *et al.*, 2010). Además, el VIH-1 contiene otros seis genes denominados inicialmente accesorios: tat, rev, nef, vif, vpr y vpx, que dan lugar a sus correspondientes proteínas con un papel muy importante en el ciclo biológico del virus (Delgado, 2011). En la figura 1 se esquematiza la estructura general de la partícula de VIH-1.



**Fig. 1** Esquema general de la estructura de la partícula de VIH-1.

*ENV: Envoltura, MA: Matriz, CA: Cápside, NC: Nucleocápside, IN: Integrasa, RT: Retrotranscriptasa, PR, Proteasa, ARN: Genoma del virus.* (Delgado, 2011).

Los factores relacionados con la dificultad de neutralizar la infección por VIH-1 están directamente relacionados con Env: 1) gran variabilidad de la envoltura con 5 regiones hipervariables en la zona más externa de gp120, (2) alto nivel de glicosilación de Env con más del 50% de su masa en azúcares (N-glicosilación), que impide la unión de anticuerpos (escudo de glicanos) y 3) enmascaramiento conformacional, el sitio de unión con los correceptores (CCR5 ó CXCR4) no existe hasta que se organiza espacialmente después del cambio en la conformación de gp120 inducido por la interacción con CD4, y es por tanto muy poco susceptible a la neutralización mediada por anticuerpos (Delgado, 2011).

## .2.2 **Mecanismo de transmisión**

El VIH no puede sobrevivir fuera del torrente sanguíneo o tejido linfático. Además, el virus se inactiva fácilmente por la exposición a los detergentes o desinfectantes comunes. Por lo tanto, la transmisión del virus requiere la exposición directa de la sangre o secreciones infectadas con la presencia de abrasiones en la piel, por medio de agujas o herramientas afiladas o en los tejidos de la mucosa al tener relaciones sexuales. La transmisión del VIH depende en gran medida de las propiedades biológicas del aislamiento del virus, su concentración en el organismo infectado, y finalmente, la susceptibilidad del huésped (Fanales *et al.*, 2010).

La transmisión del virus se produce a través de tres vías: contacto sexual, contacto parenteral y transmisión vertical de madre a hijo (D'Angelo *et al.*, 2007). El VIH-1 se transmite principalmente por contacto sexual a través de la gran concentración de partículas en semen y fluidos genitales (Delgado, 2011). La transmisión vertical puede ocurrir durante el embarazo (intrauterino), durante el trabajo de parto, o bien en el período postnatal, a través de lactancia materna (D'Angelo *et al.*, 2007).

La interacción entre virus y hospedador representa un proceso de extraordinaria complejidad en el que dependiendo de la virulencia del germen, sus mecanismos patogénicos y la respuesta inmunitaria se establecen infecciones agudas o crónicas en las que el equilibrio puede asentarse del lado del virus o del sujeto infectado (Alcamí, 2003)

## 2.2.3 **Replicación y ciclo infectivo**

El ciclo de replicación del VIH se muestra esquemáticamente en la Figura 2 y se puede resumir en seis pasos:

1. Unión y fusión:

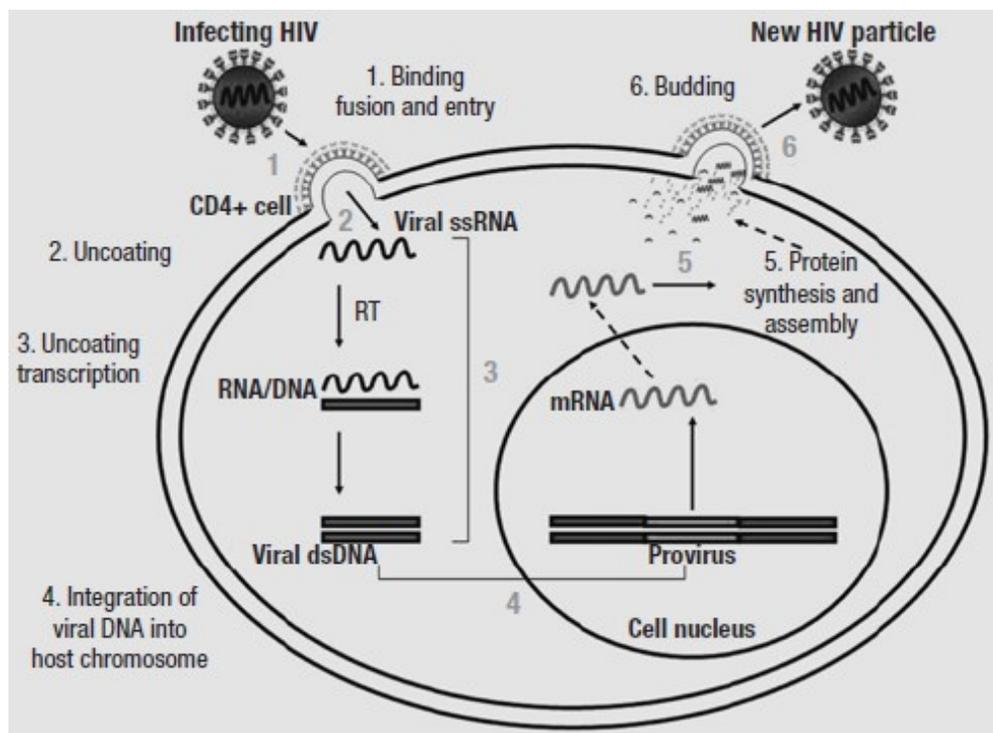
La gp120 del VIH se une a una glicoproteína monomérica de 58 kDa llamada CD4, que se expresa en la superficie celular de alrededor el 60% de la circulación de los linfocitos T, en las células T precursoras en la médula ósea y el timo, en monocitos/macrófagos, eosinófilos, células dendríticas y células de la microglía del sistema nervioso central. La molécula CD4 normalmente funciona como un correceptor del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (Fanales *et al.*, 2010).

Es precisamente el linfocito T la célula diana principal del virus y expresa en la superficie los dos receptores necesarios para la entrada: la propia molécula CD4 y un receptor de quimiocinas, generalmente CCR5. En algunos pacientes el virus puede utilizar un receptor alternativo CXCR4 en fases avanzadas de su evolución, en lo que se conoce como cambio de tropismo. La molécula gp120 experimenta un cambio conformacional al interactuar con CD4 y se produce entonces una segunda interacción con el receptor de quimiocinas CCR5 o CXCR4. Este doble reconocimiento de receptores induce la exposición de la zona fusogénica amino-terminal de gp41, el otro componente de la envoltura, que permite la fusión de las membranas viral con la celular y la entrada de la partícula (Delgado, 2011).

2. Integración:

Después de la fusión de membrana, en el citoplasma de la célula diana el núcleo del virus libera el ARN viral. La conversión de ARN viral en ADN proviral se lleva a cabo debido a la acción de la transcriptasa inversa y la integrasa, a través

de su sitio activo ribonucleasa H, la transcriptasa inversa inicia la transcripción del ARN viral en el citoplasma que se presenta como una polimerización a partir del sitio de unión al cebador, hasta que el ARN viral se transcribe en un ARN / ADN de doble hélice híbrido. Luego, el sitio de la ribonucleasa H rompe la cadena del ARN y el sitio activo de la polimerasa la transcriptasa inversa completa una cadena ADN complementario para formar una molécula de ADN de doble hélice, que se integra en el genoma celular por la enzima de la integrasa. La integración del ADN proviral y la expresión del provirus requieren que la célula diana esté en un estado activado. Monocitos / macrófagos, células microgliales y células T CD4+ en reposo con infección latente contienen provirus integrado y son reservorios celulares importantes de larga vida del VIH (Fanales *et al.*, 2010).



**Fig. 2** Ciclo de replicación del VIH (Fanales *et al.*, 2010).

### 3. Transcripción inversa

#### 4. Integración de provirus

La 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 (Alcamí, 2003).

#### 5. Síntesis y ensamblaje de la proteína viral

La transcripción del ADN proviral en un ARN mensajero, es un proceso donde ocurre la transcripción inicial con la síntesis temprana de proteínas de regulación del VIH-1 como Tat y Rev. El ARN mensajero viral que codifica los fragmentos migra hacia el citoplasma, donde las proteínas estructurales de nuevos viriones son sintetizadas. Las proteínas codificadas por los genes pol y gag forman el núcleo de la maduración de las partículas del VIH; los productos de los genes codificada por el gen env forma los picos de la glicoproteína de la envoltura viral. Grandes moléculas precursoras gp160 son, de hecho, escindida por la proteasa del VIH-1 en gp120 y gp41. Las proteínas Gag y Pol son también derivado de una gran molécula precursora 160 kD, de la proteasa del VIH que rompe el p24, p17, p9 y p7. La escisión de las moléculas precursoras de la proteasa VIH-1 es necesaria para la generación de partículas virales infecciosas. La formación de nuevas partículas virales es un proceso gradual: dos cadenas de ARN viral se asocian con las enzimas de replicación, mientras que las proteínas básicas montan la formación de los cápside del virus. Esta partícula inmadura migra hacia la superficie celular. Las moléculas precursoras grandes luego se dividen por la proteasa del VIH-1, resultando en nuevas partículas virales infecciosas, que brotan a través de la membrana de la célula huésped (Fanales *et al.*, 2010).

## 6. Salida

El linfocito T CD4+ infectado se destruye en 24 horas al completar el virus un ciclo infeccioso, sin embargo unas pocas células infectadas no son destruidas y pueden revertir al estado quiescente después de la infección albergando al virus latente durante periodos muy prolongados, en lo que se conoce como reservorio. El reservorio celular latente de VIH-1 consiste principalmente en linfocitos T CD4+ memoria en estado de reposo. Este reservorio de células latentemente infectadas tiene una vida media de más de 4 años y es el obstáculo principal para la erradicación del virus. La infección por VIH es intrínsecamente incurable con antirretrovirales porque, aunque sea posible frenar completamente la replicación del virus durante largos periodos, al suspender el tratamiento se reinicia la replicación a expensas de este reservorio (Delgado, 2011).

### 2.2.4 Patogenia y patología

El curso de la enfermedad no tratada VIH se compone de una fase aguda caracterizada por una carga viral muy alta y agotamiento de las células TCD4+, seguido por una fase crónica asintomática con una carga viral más moderada y una pérdida lenta de células TCD4+ después de la recuperación parcial, y finalmente, aparición de las infecciones oportunistas de la inmunodeficiencia, y la muerte (Pettravic y Davenport, 2011).

El agotamiento de los linfocitos TCD4+ es el sello de la progresión de la Infección por VIH y, en ausencia de tratamiento antiviral, el principal contribuyente al desarrollo de infecciones oportunistas y finalmente a la muerte de la mayoría de los pacientes infectados. Los linfocitos TCD4+ fisiológicamente juegan un papel central en orquestar la respuesta inmune incluyendo la respuesta humoral y celular de la inmunidad adquirida contra los patógenos (Burastero *et al.*, 2009).

La infección sin intervención terapéutica generalmente se expresa a través de tres fases durante un período de ocho a diez años.

- Infección aguda, que es la fase de viremia y donde se genera síndrome de tipo mononucleosis severa.
- Latencia clínica, donde ocurre un decrecimiento lento pero consistente de linfocitos T CD4+ y de todo el sistema inmunológico integral. Asimismo, hay una baja en la concentración de partículas virales en sangre periférica y decrecimiento del título de anticuerpos antivirales
- Enfermedad clínicamente aparente, es caracterizada por una reaparición de partículas virales, una pérdida significativa de linfocitos T CD4, una declinación del sistema inmunológico y numerosas enfermedades que definen en su totalidad el SIDA. Otras anomalías muy relacionadas a la infección por VIH-1 es la manifestación de demencia por la alteración del sistema nervioso central conocido como complejo de demencia por SIDA o más recientemente demencia por VIH-1 (Yábar, 2003).

La infección aguda o primaria por VIH se define como el primer período de infección de la detección de ARN del VIH hasta que la formación de anticuerpos específicos del VIH después de 3-4 semanas de la infección. Luego de la transmisión sexual del VIH, el primer virus se replica localmente en la vagina o en

la mucosa del recto, y esta primera etapa antes de detectar el ARN viral en el plasma se denomina la fase del eclipse. En el momento pico de la viremia, los pacientes pueden desarrollar los síntomas del síndrome retroviral agudo, incluyendo enfermedad de tipo gripal, con fiebre, dolor de garganta, linfadenopatía, y exantema (Mogensen *et al.*, 2010).

Los síntomas de la fase aguda por infección VIH-1 tienen una duración entre 7 y 10 días, y rara vez más de 14 días. Durante la infección aguda por VIH-1, el número de células T CD4+ disminuye drásticamente, en asociación con altos niveles de viremia, antes del inicio de la respuesta inmune antiviral. Cuando la respuesta inmune específica se ha suscitado, disminuye la viremia del VIH y las células T CD4+ aumentan de nuevo, aunque a niveles inferiores a los presentes antes de la infección (Pettravic y Davenport, 2011).

Mogensen *et al.* (2010), describen los roles potenciales del sistema inmune innato en la infección por VIH:

(1) Tras la exposición de las mucosas, el VIH se transmite con muy baja eficiencia, lo que indica que los mecanismos innatos antivirales son operativos para prevenir el establecimiento de la infección.

(2) La primera respuesta inflamatoria conduce al reclutamiento y activación de diferentes leucocitos, algunos de los cuales sirven como células diana para la infección de novo por VIH.

(3) Tras una exposición aguda de la infección, la carga viral circulante en general se reduce a un nivel bajo. Esto es mediado por la respuesta inmune adaptativa, que se activa a través de procesos impulsados por la respuesta inmune innata. Por otra parte, mecanismos directos de antivirales innatos contribuyen al control de la replicación del virus durante el fase crónica.

(4) Persistente activación inmune durante la infección crónica por el VIH

Un rápido agotamiento de la población de las células T CD4+ se produce durante la infección aguda, en particular, en el tracto gastrointestinal asociada a tejido linfoide marcando una cicatriz no recuperable en el sistema inmunológico. Con la resolución de los síndromes clínicos, la carga viral disminuye a un punto que continúa en este nivel durante meses o años hasta la disminución progresiva de células TCD4+ resultando la aparición de SIDA (Streeck *et al.*, 2009).

Los órganos linfoides representan el gran reservorio donde se producen los fenómenos de infección y propagación del VIH. La población de linfocitos TCD4+ activados sería la responsable de la ingente producción de viriones observada en el paciente infectado y representaría la población destruida por efecto citopático directo que tendría una semivida inferior a 24 horas. La progenie viral producida infectaría a su vez linfocitos activados, especialmente aquellos que se encuentran en fase de división para “regenerar” los linfocitos destruidos o los linfocitos TCD4+ específicos del VIH que al reconocer los antígenos virales se activan, lo que los hace más susceptibles a la infección viral (Alcamí, 2003).

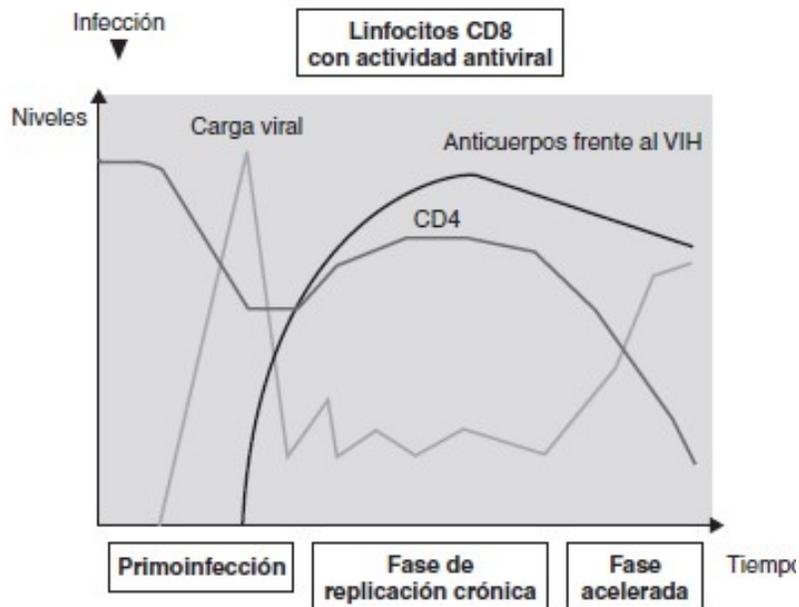
La activación inmune persistente se manifiesta por aumento del recambio de las células T, monocitos y células Natural Killer, los altos niveles de apoptosis de las células TCD4+, CD8+ y la activación policlonal de células B con hipergammaglobulinemia. La activación inmune es un fuerte predictor en la progresión de la enfermedad por VIH, incluso cuando se miden antes de la seroconversión. Estudios recientes muestran que los marcadores biológicos asociados con inflamación IL-6, dímero D y cambios en la proteína C reactiva (PCR), predicen la mortalidad en pacientes VIH+ (Ford *et al.*, 2009).

Los cambios en el número y función de células T CD4+ sin embargo, por si solo no explican completamente la progresión de la enfermedad del VIH. Las células T CD4+ son esenciales para la eficacia de las respuestas de células T CD8+ y la pérdida del número y la función dentro del compartimiento de células T

CD4+ produce, a su vez, efectos perjudiciales sobre el compartimiento de los linfocitos T CD8+. Por ejemplo, se ha informado que los linfocitos T CD8+ VIH-específicos sólo expresan niveles bajos de la perforina, un mediador clave de la actividad citolítica, incluso a pesar de que todavía puede producir citocinas antivirales y quimiocinas (Schweneker *et al.*, 2008).

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 la generación de variantes más citopáticas. La elevación de la carga viral y el rápido descenso en la cifra de linfocitos TCD4+ son los marcadores de una replicación “salvaje” del virus en ausencia de mecanismos de control inmunológico (Alcamí, 2003).

El desarrollo del SIDA puede ocurrir cuando la densidad de células T CD4+ cae por debajo de un límite necesario para proporcionar ayuda (el umbral a ser alrededor de 200 células/ml de sangre en la infección por VIH), que conduce a defectos funcionales en las células TCD8+ y células B productoras de anticuerpos (Petrvic y Davenport, 2011). En la figura 3 se resumen los parámetros virológicos e inmunológicos en cada una de las fases de la infección por el VIH.



**Fig. 3** Evolución de los parámetros virológicos e inmunológicos en la infección por el VIH (Petrvac y Davenport, 2011)

En conclusión, la infección con HIV es un proceso extremadamente dinámico en la mayoría de individuos, y bajo la apariencia de inactividad y de latencia clínica durante las etapas tempranas e intermedias de la enfermedad se lleva a cabo en los ganglios linfáticos una reproducción y destrucción extremadamente rápida del virus y de los linfocitos CD4. Después de varios años de infección del sistema inmune y en las manifestaciones clínicas asociadas al SIDA (Campo y Scerpella, 1996).

### 2.2.5 Epidemiología

ONUSIDA) (2012), estima que a nivel mundial hay 34,0 millones de personas que viven con VIH a finales del 2011. Para dicho año el número de nuevas infecciones (adultos y niños) por VIH fue de 2,5 millones un 20% inferior al año 2001. Los mayores descensos en el número de personas a adquirir la infección por el VIH desde 2001 se han producido en el Caribe (42%) y África subsahariana (25%).

La epidemia de VIH en la República Bolivariana de Venezuela, al igual que en la mayoría de los países de la Región Americana, se estima que es concentrada y que se mantiene contenida en los grupos que se consideran epidemiológicamente como más expuestos, a saber, hombres que tienen relaciones sexuales con otros Hombres, trabajadoras y trabajadores sexuales. En la tabla 1 es evidente el incremento de casos en pacientes femeninas durante el último año. Esta información proviene de la notificación regular que realizan las Coordinaciones Regionales del Programa y se estima que en ellas existe un subregistro de casos (MPPS, 2010).

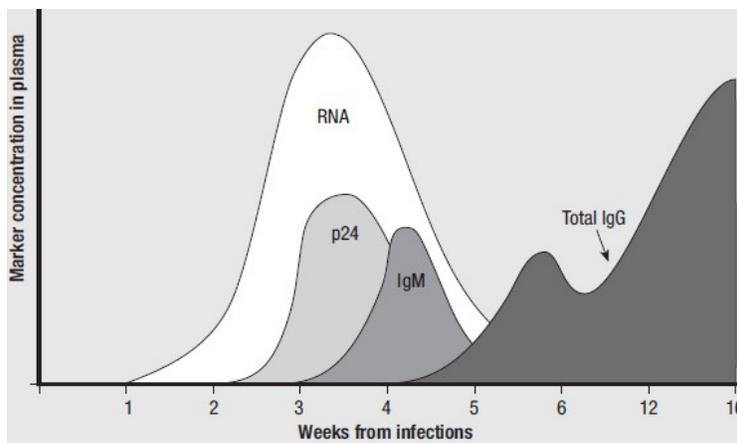
**TABLA 1.** Casos Nuevos Reportados según sexo. Venezuela 1997-2009

<b>Año</b>	<b>Masculino</b>	<b>Tasa</b>	<b>Femenino</b>	<b>Tasa</b>	<b>Total</b>
1997	329	2,84	55	0,48	384
1998	257	2,18	43	0,37	300
1999	54	0,45	11	0,09	65
2000	15.472	126,51	6.496	53,77	21.968(*)
2001	9.115	73,19	3.934	31,95	13.049(*)
2002	4.014	31,66	1.644	13,11	5.658
2003	2.545	19,73	1.107	8,67	3.652
2004	3.145	23,96	1.408	10,83	4.553
2005	3.069	22,99	767	5,79	3.836
2006	9.884	80	1.913	20	11.997
2007	4.869	32,85	1.217	18,25	6.086

2008	5.482	81,59	1.833	27,62	7.315
2009	8.725	61,67	2.487	20,13	11.212
<b>Total</b>	<b>66.960</b>	<b>497,95</b>	<b>22.915</b>	<b>190,93</b>	<b>89.875</b>

## 2.2.6 Métodos diagnósticos

Después de la infección por VIH, los principales marcadores en sangre inmunológicos y virológicos aparecen en un orden cronológico y en particular: el ARN del VIH, el antígeno p24 del VIH (una proteína codificada por el gen gag), y los anticuerpos a los antígenos del VIH (Figura 4). El ARN viral (viremia) se puede medir en plasma dentro de 2 semanas después de la infección (en general en 10-12 días). Sus títulos incrementan de manera exponencial, hasta aproximadamente a 1 millón de copias de ARN / ml dentro de un par de meses. El antígeno p24 viral puede medirse en la sangre un poco más tarde que el ARN viral, 11-13 días a partir de la infección, ya que los métodos utilizados para su detección son menos sensibles que la amplificación para detectar el ARN (Buttó *et al.*, 2010).



**Fig. 4** Marcadores virológicos y serológicos durante las primeras semanas después infección por el VIH-1 (Fanales *et al.*, 2010).

La aparición de la viremia en el plasma es un punto crítico en la historia natural de infección por VIH, ya que indica que el individuo infectado ha adquirido el potencial de transmisión de la infección y proporciona la primera oportunidad de diagnosticar la infección en la muestra de sangre (Fanales *et al.*, 2010).

El intervalo de tiempo antes que aparezcan los anticuerpos, es conocido como "período de ventana" serológico y es caracterizado por la seronegatividad, viremia detectable (medido por ARN o antígeno p24), y niveles variables de linfocitos CD4 (Constantine y Zink, 2005).

La detección de anticuerpos específicos contra el VIH señala el fin del período de ventana. En la mayoría de los casos, en primer lugar el anticuerpo específico del VIH que aparece es IgM, por lo general dentro de las primeras tres semanas de la infección y el pico entre la 4ª y la 5ª semana. Sin embargo, la respuesta depende fuertemente en cada individuo. De hecho, los anticuerpos IgM pueden no detectarse en todos los individuos infectados. Por último, la detección de anticuerpos IgM depende en gran medida del ensayo utilizado. Los anticuerpos IgG VIH específicos por lo general aparecen alrededor de 3-4 semanas después de la infección (Buttó *et al.*, 2010).

Los métodos de laboratorio de rutina para el diagnóstico de infección por el VIH se basan en la detección de anticuerpos anti-VIH, que suelen aparecer 3-5 semanas después de la infección. Estos métodos no identifican a los individuos con infección aguda (pre-seroconversión). Muchos individuos con infección aguda por VIH no son conscientes de su estado de infección. Además, la infección aguda por VIH es a menudo asociada con una alta concentración de VIH en el plasma y en las secreciones genitales que a su vez se asocia con mayor riesgo de

transmisión. Por estas razones, los individuos agudamente infectados son considerados como los principales motores de la epidemia mundial de VIH (Eshleman *et al.*, 2009).

Más recientemente, las pruebas de ELISA de cuarta generación han sido desarrolladas para detectar simultáneamente tanto anticuerpos como antígeno p24. La prueba del antígeno p24 detecta la cápside viral (core) de la proteína p24 en la sangre que se manifiesta antes que los anticuerpos durante la infección aguda contra el VIH. El antígeno p24 aparece alrededor de los 16 días después de la infección como consecuencia de la explosión inicial de virus. Por lo tanto, este marcador se puede utilizar para acortar el período de ventana serológico (Constantine y Zink, 2005)

El diagnóstico de infección por VIH en niños menores de 18 meses, nacidos de madres seropositivas, presenta dificultades especiales. La serología tradicional no ofrece garantías diagnósticas, puesto que los anticuerpos de tipo inmunoglobulina IgG detectados frecuentemente corresponden a anticuerpos maternos transferidos in utero. La seroconversión, o pérdida de anticuerpos maternos, sucederá entre los 12 y 18 meses de edad en aquellos niños que no hayan adquirido la infección. El uso de métodos directos es más apropiado para el diagnóstico precoz. La detección de antígeno p24 presenta una especificidad del 100%, aunque su sensibilidad es variable y en niños recién nacidos infectados puede ser sólo del 20%. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) presenta una alta sensibilidad en la detección de secuencias de ADN proviral con una especificidad del 30-50% en las primeras semanas de vida y entre el 95-100% en los niños mayores de 1 mes. De allí la necesidad de implementar para su diagnóstico en recién nacidos técnicas de detección directa del virus, tales como la determinación del material genómico del VIH, bien sea ADN proviral (integrado en

las células infectadas) a partir de células mononucleares de sangre periférica o ARN viral presente en el plasma mediante la PCR (D'Angelo *et al.*, 2007).

El western blot (WB) es una prueba confirmatoria que sólo se lleva a cabo si la muestra es reactiva en la prueba de ELISA. Es una metodología donde se encuentran desnaturalizadas las proteínas de VIH en tiras de membrana de nitrocelulosa, que se incuban con el suero del paciente. Si el suero contiene anticuerpos contra las diferentes proteínas del virus se unen y esta reacción antígeno-anticuerpo es revelada mediante un anticuerpo secundario marcado con una enzima. Una reacción colorimétrica revelará la presencia de proteínas reconocidas por los anticuerpos del VIH como "bandas" en la tira. Para el VIH-1, las proteínas detectables por el WB se pueden dividir en tres grupos: el Env (envoltura) glicoproteínas (gp41, gp120, gp160), proteínas nucleares (p17, p24/25, p55) y las proteínas Pol o endonucleasa de la polimerasa (p34, p40, p52, p68). La mayoría de los WB disponibles en el mercado incluye también una proteína del VIH-2 con el fin de detectar el VIH-1 y VIH-2 (Buttó *et al.*, 2010).

Por lo tanto, el diagnóstico de VIH se puede dividir en ensayos de dos categorías: (i) los de selección, que están diseñados para detectar todos los las personas infectadas, y (ii) de confirmación, que se han diseñado para diferenciar a las personas que falsamente reactivas de aquellos que están verdaderamente infectados. En consecuencia, las pruebas de selección tienen un alto grado de sensibilidad (baja tasa de falsos negativos), mientras que los ensayos de confirmación deben tener un alto grado de especificidad (baja tasa de falsos positivos) (Constantine y Zink, 2005).

### 2.2.7 Estado celular en infección por VIH

La destrucción de los linfocitos TCD4+ representa el evento más característico de la infección por el VIH. Dada la agresiva cinética de replicación viral, se postuló inicialmente que la destrucción de los linfocitos TCD4+ era una consecuencia directa de la replicación viral y del consiguiente efecto citopático en la célula infectada. Sin embargo, otros mecanismos de destrucción indirecta o de bloqueo linfocitario se hallan también implicados como causa del proceso de inmunosupresión, ya que la destrucción linfocitaria por efecto citopático directo no explica todos los fenómenos de disregulación inmunitaria que se observan en el sida (Alcamí, 2003).

Como se describió anteriormente el VIH infecta principalmente las células que expresan moléculas de superficie TCD4+. La infección causa acortamiento del tiempo de supervivencia y deterioro de la producción de células TCD4+, con una disminución progresiva de esta población celular en sangre periférica, dando como resultado la inmunosupresión. La velocidad a la que células TCD4+ declina es uno de los marcadores de progresión de la enfermedad en la infección por el VIH. Las directrices actuales para el uso de la terapia antirretroviral en Nigeria hacen hincapié en el uso del recuento de células TCD4+ para determinar cuándo iniciar la terapia antirretroviral como monitoreo de la enfermedad del VIH. Por lo tanto, el grado de inmunosupresión y la probabilidad de desarrollar complicaciones relacionadas con el SIDA en personas infectadas por el VIH suelen medirse por el número absoluto de células TCD4+. La definición de SIDA, por ejemplo, incluye todos los individuos infectados por VIH con recuentos de linfocitos TCD4+ menor de 200 células/mL (Forbi *et al.*, 2010).

Es por ello que Escobar *et al.* (2011), establecen como ejemplo de las pruebas realizadas en los últimos años para comprobar el estado de salud de estos pacientes, el conteo de linfocitos T CD4+ y la carga viral (CV), los cuales son

considerados como marcadores de prevención, evolución y pronóstico de la infección por VIH/SIDA.

#### 2.2.8 Carga viral

El nivel de virus en la sangre (carga viral) es un factor predictivo del avance de la enfermedad por el VIH; las personas con altos niveles de ARN viral tienen mayor probabilidad de presentar rápido desarrollo de esta patología que las personas con bajos niveles. La carga viral es un marcador de la actividad del VIH, determina la etapa de la infección en la que se encuentra el paciente, además, se considera uno de los indicadores del estado del sistema inmunológico y de la progresión de la enfermedad, solo o en conjunción con el conteo de células TCD4+ (Porto *et al.*, 2008). Es una medida cuantitativa del ARN del VIH en plasma y es por tanto, expresión del grado de replicación viral que está ocurriendo a nivel del tejido linfoide (ganglios, bazo, tejido linfoide asociado a tractos gastrointestinal, genitourinario, pulmonar, etc.), tanto en la fase temprana como crónica de la infección (Peña *et al.*, 2009).

La carga viral plasmática se ha identificado como el mayor predictor de riesgo de transmisión sexual del VIH. Los pacientes con valores elevados de carga viral presentan una mayor probabilidad de transmitir el virus, mientras que con valores bajos de viremia la probabilidad de transmisión disminuye drásticamente (Valer *et al.*, 2003).

En alrededor del 99%, la producción viral del VIH se mantiene por ciclos de infección de los linfocitos, producción viral y muerte con una cinética de recambio muy rápida (González *et al.*, 2011). La manera en la que HIV se reproduce a un ritmo extremadamente alto e ininterrumpido a través de muchos años no tiene

precedente. La vida media de cada partícula viral en plasma es de 6 horas, y del momento en que un linfocito CD4 se infecta con HIV al momento en que se comienza a producir progenie viral transcurren 22 horas, con una vida media de los linfocitos infectados de 36 horas. El virus se produce aproximadamente 140 veces al año, y diariamente se producen y destruyen hasta 1010 partículas virales, lo que representa un 30% del total de virus en la sangre. Esta dinámica reproductiva es lo que separa a HIV de otras infecciones. No se conoce ningún otro virus que pueda reproducirse a tan alta velocidad y de manera ininterrumpida a través de tantos años de infección (Campo y Scerpella, 1996)

La evaluación de los niveles de ARN genómico viral constituye un buen marcador en el monitoreo de la eficacia del tratamiento antirretroviral ya que la cantidad de virus medida en plasma es una indicación directa de la producción del virus y de la velocidad de destrucción de los linfocitos T CD4+ (Gutiérrez *et al.*, 2009). Las evidencias soportan que el mantener la carga viral lo más bajo posible, en el nivel de indetectabilidad (< 50 copias/ml) y por el mayor tiempo posible, disminuye las complicaciones de la infección, enlentece la progresión y mejora la calidad de vida (Peña *et al.*, 2009).

Porto *et al.* (2008), establecen que la valoración de la respuesta al tratamiento, se debe hacer estimando carga viral y linfocitos TCD4, ya que sus variaciones o alteraciones son más visibles que cualquier situación clínica. El control de dichos parámetros realizados en su estudio permitió modificar el tratamiento antirretroviral.

En el mismo orden de ideas González *et al.* (2011), indican que la cuantificación del ARN del VIH-1 es un reflejo de la replicación viral activa y es

esencial en algunas situaciones clínicas de la infección por este virus. Las indicaciones principales son las siguientes:

- La carga viral es un marcador predictivo del tiempo de progresión a SIDA independientemente del número de linfocitos TCD4+. En los primeros años de conocerse el SIDA se consideró el recuento de las células TCD4+ como el mejor marcador pronóstico de progresión, pero en el momento actual, el procedimiento para el seguimiento de los pacientes es el estudio de ambos marcadores, carga viral y recuento de células CD4+.

- La cuantificación de la carga viral de VIH-1 debe ser realizada antes de iniciar un tratamiento con antirretrovirales para medir la eficacia o respuesta al tratamiento y en el caso de que se sustituya o añada algún fármaco, bien por efectos secundarios o por sospecha de fracaso.

- Hay situaciones EXCEPCIONALES en las que la carga viral es muy útil para el diagnóstico o confirmación de infección por VIH-1. Por ejemplo, en el diagnóstico de infección neonatal (la determinación de anticuerpos no es útil) e incluso cuando se sospecha infección aguda (reduce el período ventana).

En los últimos años se han desarrollado diversas tecnologías de cuantificación viral, las cuales pueden dividirse en 2 categorías: 1) donde la carga viral es detectada mediante amplificación de una señal proporcional a los niveles de ARN viral en lugar de la amplificación de una secuencia específica, por ejemplo, el ensayo ADN ramificado (bDNA, “branched DNA” en inglés) de Bayer; 2) donde el ADN molde es amplificado luego de una reacción de transcripción reversa y la medida de carga viral se realiza en base al uso de un estándar de cuantificación interno tal es el caso del ensayo RT-PCR Amplicor Monitor (RT-PCR Monitor) desarrollado por Roche (Gutiérrez *et al.*, 2009).

### 2.2.9 Virus Hepatitis B (VHB)

La infección por el VHB es un problema de salud relevante a nivel mundial, con 2 billones de personas infectadas en todo el mundo, 350 millones de ellos sufren una infección crónica por el VHB. Los resultados de la infección por VHB en 500.000 a 1,2 millones de muertes anuales son causados por la hepatitis crónica, cirrosis, y el carcinoma hepatocelular y es la décima principal causa de muerte en todo el mundo. Los mecanismos para la infección persistente por el VHB no se comprenden totalmente, pero que parecen implicar varios aspectos, incluidos los componentes genéticos (Santos *et al.*, 2010).

De acuerdo a la prevalencia de la infección se definen como regiones de endemidad baja a aquellas con una prevalencia de HBsAg de 0.1 a 2%, intermedia de 2 a 7% y alta si es mayor al 7%. En Chile la endemidad es considerada baja, con una portación crónica menor al 1 %, riesgo de infección durante la vida menor a 20%, y una mayor prevalencia en adultos con factores de riesgo. En Latinoamérica existen regiones con endemidad intermedia y alta como la cuenca del Amazonas, región Noroeste de Argentina, Haití y República Dominicana (MINSAL, 2009).

El espectro clínico de la infección crónica varía de portadores inactivos del VHB a formas severas de enfermedad hepática crónica, las que pueden llegar a la cirrosis y el estadio final de la enfermedad en aproximadamente 14% a 40%, haciendo de este virus la cuarta causa de muerte por enfermedades infecciosas a nivel mundial (Gonzales y Salinas, 2009).

### **2.2.10 Estructura y replicación**

Pertenece a la familia de los hepadnavirus, llamados así por ser hepatotróficos, estar formados de un genoma de DNA y compartir estructura y estrategia replicativa. Es un virus esférico de 42 nm, contiene una molécula de DNA circular con 3,200 bases de longitud. El virus tiene dos componentes, uno externo que expresa al antígeno de superficie (HBsAg) y otro interno que contiene al antígeno central (HBcAg). En la porción central se encuentra el DNA de doble cadena (HBV DNA) y la replicasa o polimerasa viral (DNAP o DNA polimerasa). El HBV-DNA tiene una cadena larga y otra corta. En la cadena larga se encuentra toda la información genómica del virus, la secuencia de genes que codifican las proteínas virales tienen codones de inicio de mensajes y no tienen codones de finalización. Estas consecuencias codifican tanto proteínas estructurales (pre-S, superficie, core) como proteínas de replicación (polimerasa y la proteína X) (Halabe y Angulo, 2000).

La clasificación genética del VHB, basada en el alineamiento y comparación de secuencias de genomas completos, ha identificado 8 genotipos, denominados desde la A hasta la H. Las diferencias están dadas sobre una divergencia intergrupo de al menos 8% en la secuencia nucleotídica completa. Los análisis filogenéticos más detallados han mostrado además que la mayoría de estos genotipos pueden ser subdivididos en subgenotipos, los cuales difieren entre sí en

no más de un 4% en sus secuencias completas, lo que muestra la alta variabilidad de este agente viral (Santos *et al.*, 2010).

La historia natural de la infección por el VHB es muy heterogénea y depende de la interacción entre el virus, hospedador, y los factores ambientales. Cuando el VHB infecta a un individuo susceptible entra en el hepatocito y su ADN incorporado en el ADN de la célula, da como resultado un enlace covalente de forma circular cerrado ADN (ADNccc). Este ADNccc se transcribe en el núcleo de los hepatocitos a la forma de ARN, que más tarde se traduce en el citoplasma para formar nuevas partículas virales. Por lo tanto, ADNccc actúa como una plantilla para la formación de los nuevos virus que infectan los hepatocitos, y permanecerá en el núcleo hasta que la célula del hígado se destruye. La replicación del virus no es directamente citotóxica para las células. Esto explica el hecho de que a pesar de la alta replicación viral los portadores pueden ser asintomáticos y mostrar un mínimo de hígado daños (Álvarez *et al.*, 2010).

#### **2.2.11 Mecanismo de transmisión**

El VHB se transmite principalmente por tres vías: parenteral, sexual y vertical, siendo las dos últimas, las de mayor relevancia en la actualidad. Después del contacto de una persona con una fuente de contagio, existe un período de incubación que oscila entre los 45 y 180 días. Posterior a esto, el espectro clínico que puede resultar de la infección por VHB es amplio. En adultos, entre el 90 y el 95% de los casos ocurre una hepatitis aguda, que con frecuencia es asintomática y que evoluciona hacia una resolución espontánea. En casos excepcionales puede evolucionar hasta una insuficiencia hepática fulminante. Por el contrario,

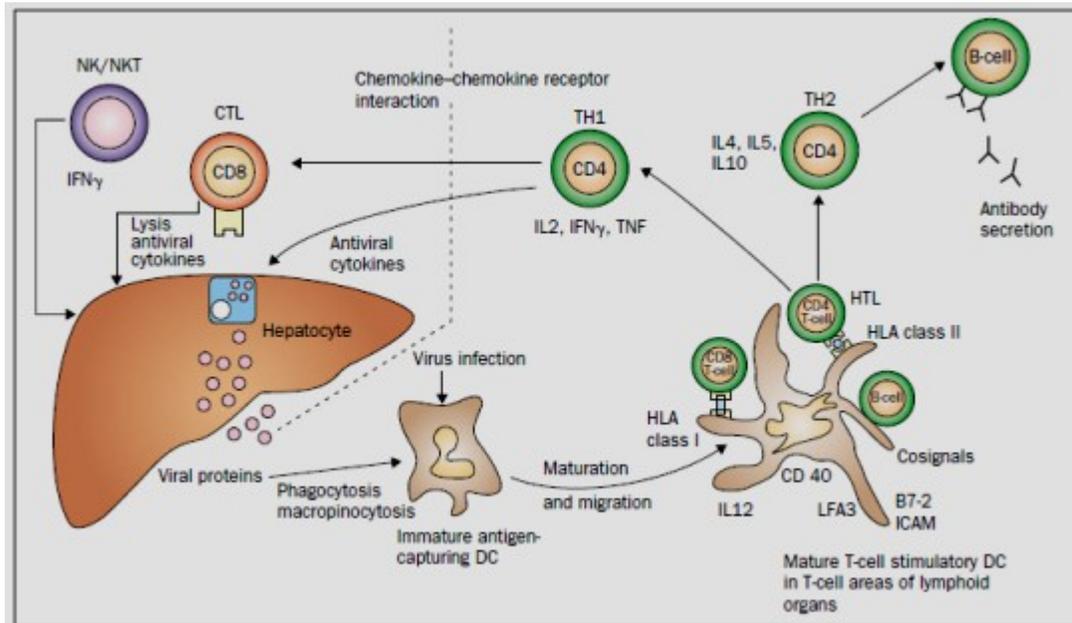
solamente entre el 5 y el 10% de los adultos inmunocompetentes que tiene una infección aguda por VHB evolucionará a hepatitis crónica, con distintos grados de enfermedad hepática y progresión, dentro de los cuales destacan la hepatitis crónica inactiva (asintomática), la hepatitis crónica activa, la cirrosis y el desarrollo de carcinoma hepatocelular. En los recién nacidos, en cambio, el 90% de los infectados evolucionará a una infección crónica, la que en general es poco sintomática y de lenta progresión (Santos *et al.*, 2010).

#### **2.2.12 Patogenia y patología**

Durante la replicación viral se expresan varios antígenos dentro de la célula del hígado, algunos se expresan en la membrana celular (HBcAg), y unos se liberan en forma de partículas que circulan en el torrente sanguíneo (HBsAg y HBeAg). El sistema inmune del huésped reconoce estos antígenos como extraños, y dispara una respuesta inmune. Si la respuesta inmune es eficaz todos los hepatocitos infectados serán destruidos, y la infección se resolverá. Si la respuesta inmune es inadecuada, la infección se convierte en crónica progresando a lo largo de varias etapas (Álvarez *et al.*, 2010).

La respuesta del huésped a los virus se basa en una interacción compleja de varios sistemas de células; las células sistema inmune innato, las células dendríticas, que son clave en el cebado y dirigir la respuesta de células T específicas para el virus y las células T, que son los principales efectores

antivirales. Después de la infección las diversas respuestas humorales y celulares se dirigen a la eliminación del virus. Las primeras respuestas no son específicas e incluyen el sistema del interferón, las células asesinas naturales, y la activación de las células de Kupffer. En la figura 5 se resumen los eventos orquestados por el sistema inmune ante la infección por el VHB. En primer lugar tenemos las células NK/NKT del sistema inmune innato las cuales producen interferón- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ). Luego se presentan las células dendríticas las cuales toman las proteínas virales, maduran y migran a los órganos linfoides donde presentan péptidos virales de HLA de clase I y clase II a células T CD8+ y células TCD4+ respectivamente, generando de esta manera respuestas de células T en dirección Th1 o Th2. Las Th1 secretan (IFN $\gamma$ ), interleucina (IL) 2 y factor de necrosis tumoral (TNF), para el apoyo de células auxiliares como macrófagos y las células T citotóxicas para matar patógenos intracelulares. Las Th2 secretan interleucina 4, 5, y 6 para apoyo de la respuesta de células B. Las quimioquinas producidas en el hígado atraen linfocitos al hígado después de interacción con el receptor quimiocina/quimiocina. El linfocito T citotóxico virus específico procede a "matar" los hepatocitos infectados por mecanismos Fas mediado por perforina o procede a "curar" la hepatocitos infectados por citoquinas antivirales (Jung y Pape, 2002).



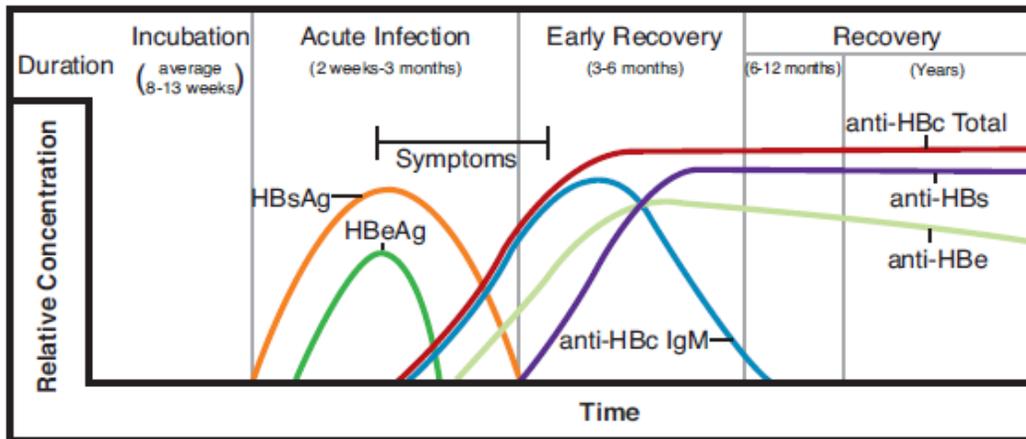
**Fig. 5** Respuesta inmune contra el VHB (Jung y Pape, 2002).

El VHB no es usualmente citopático por sí mismo; la injuria hepática en la hepatitis crónica B se considera el resultado de la respuesta inmune del huésped contra el VHB, del tipo de un antígeno restringido de HLA-clase I, respuesta mediada de linfocitos citotóxicos contra antígenos del VHB, expresados sobre los hepatocitos con apoptosis y necrosis resultante; por lo que la infección crónica por el VHB es un estado dinámico de interacciones entre el VHB, los hepatocitos y el sistema inmune de los pacientes; por lo tanto el curso natural de la infección crónica del VHB, adquirida perinatalmente o en la fase temprana de la niñez tiene tres fases: Inmunotolerante, inmunoaclaramiento y residual inactiva; la infección crónica adquirida en la edad adulta tiene un curso clínico similar, excepto que no hay la fase inmunotolerante de manera obvia o es muy corta. Aparte de la biología molecular del VHB y los factores del huésped, la coinfección con otros virus de hepatitis, por ejemplo, el virus de hepatitis C, Delta, así como otros virus no

primariamente hepatotrópicos como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pueden afectar el curso natural de la infección por el VHB, y también la eficacia de la estrategia antiviral (Gonzales y Salinas; 2009)

En la figura 6 se visualiza la evolución de la hepatitis aguda B donde el HBsAg, HBeAg y DNA del HBV se incrementan durante varias semanas hasta alcanzar cifras muy altas, aunque no haya manifestaciones de enfermedad; poco antes de que se presenten los síntomas, los niveles de DNA del HBV, el HBeAg y el HBsAg comienzan a descender. En los casos de resolución el HBeAg desaparece en el curso de seis semanas o antes, el DNA lo hace antes. El anticuerpo del core total (HBcAc) y el de IgM se elevan al comienzo de los síntomas clínicos y alcanzan sus valores máximos durante la fase tardía en que aparece el anticuerpo del antígeno e (HBeAc) y por último el anticuerpo del antígeno de superficie (HBsAc) (Halabe y Angulo, 2000).

El HBcAc está presente en las diferentes fases de hepatitis, incluida la recuperación, y puede persistir por más tiempo que el HBsAc o HBeAc, sin embargo, no es de protección. El HBcAc IgM puede ayudar en el diagnóstico de la fase aguda. En algunos pacientes, HBcAc no pueden ser detectado en cualquiera de las fases de la infección por el VHB, debido a una respuesta inmunológica defectuosa (por ejemplo, en coinfección por el VIH, en el trasplante de órganos o infección por las variantes del VHB) (Ocana *et al.*, 2011).

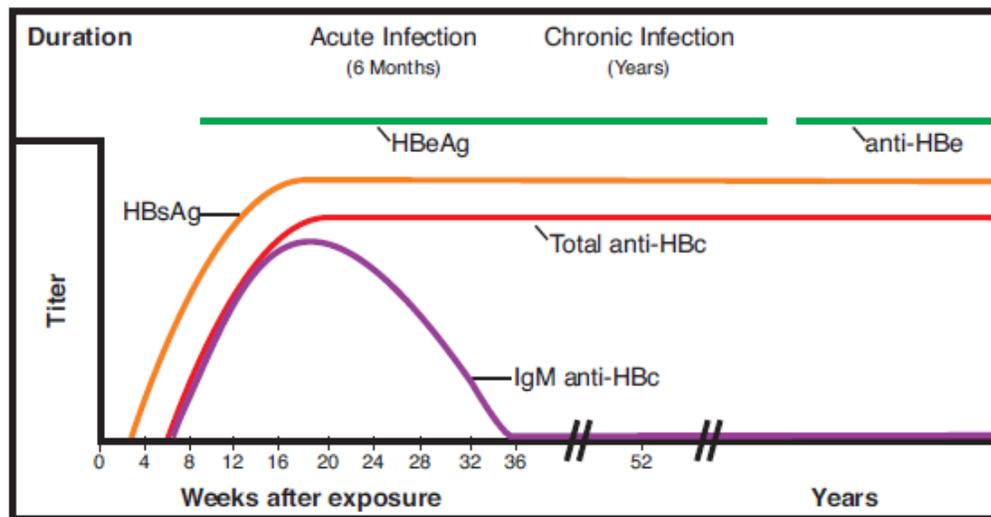


**Fig. 6** Infección aguda por VHB (Abbott Diagnostics)

Los síntomas de hepatitis B aguda se presentan después de 1 a 4 meses de adquirido el virus. Los niños e inmunosuprimidos generalmente son asintomáticos. Un 30-50% de las personas mayores de 5 años presentan síntomas como cansancio, disminución del apetito, náuseas, ictericia, dolor abdominal, artralgia o artritis. Los signos clínicos son ictericia, hepatomegalia y en ocasiones esplenomegalia. Los síntomas habitualmente desaparecen en un lapso de 2-4 meses. Una proporción muy baja de pacientes con hepatitis B aguda (0.1 a 0.5%) desarrollan una forma de la enfermedad caracterizada por una falla grave hepática (hepatitis fulminante), que tiene una elevada mortalidad. Esta forma es algo más frecuente en mayores de 60 años (MINSAL, 2009).

Por otro lado, los pacientes con HBsAg detectables durante seis meses o más, se definen como hepatitis B crónica (figura 7). Por lo general estos pacientes tienen niveles séricos elevados de las enzimas hepáticas, niveles elevados de ADN del VHB, y el alto riesgo de transmisión, tanto en relación con la positividad del HBeAg. También tienen el mayor riesgo de cirrosis y carcinoma hepatocelular

En algunos pacientes, HBeAg es detectable, a pesar de la replicación persistente del virus. En estos pacientes, el virus tiene mutaciones que impiden expresión de la proteína "e". Estas variantes son más comunes en los países del Mediterráneo y Asia. La aparición del HBeAc no necesariamente indica una mejoría clínica. También se presenta el Portador "Saludable" donde estos pacientes se caracterizan por un HBsAg positivo que persiste más de seis meses, pero con hígado y valores normales de enzimas. Son negativos para HBeAg, y se asocian con suero bajos o indetectables de ADN del VHB y bajo riesgo de progresión a cirrosis o carcinoma hepatocelular (Ocana *et al.*, 2011)



**Fig. 7** Progresión de la infección por VHB crónica (Abbott Diagnostics).

En los últimos años una nueva etapa de la infección crónica fue definida, a saber, el HBsAg negativo (VHB oculta) (Álvarez *et al.*, 2010). Biológicamente el aclaramiento del virus es clásicamente caracterizado por la emergencia del HBsAc en el perfil serológico; sin embargo el virus puede perpetuarse debido a su

peculiar ciclo de vida, que permite la conversión del genoma del VHB en un DNA circular cerrado covalentemente (cccDNA), un intermediario replicativo del VHB que persiste de por vida en el núcleo de las células como un episoma cromatinizado y que sirve como modelo para la transcripción del gen. La estabilidad y larga persistencia de las moléculas virales cccDNA junto con la larga vida media de los hepatocitos implica que la infección con VHB, una vez que ha ocurrido podría continuar toda la vida (Gonzales y Salinas; 2009). Estos pacientes generalmente no tienen importante lesión histológica, pero pueden mostrar secuelas de necroinflamación (Álvarez *et al.*, 2010).

La infección oculta por el VHB fue redefinida por expertos internacionales, reunidos en Italia en 2008, como la presencia de ADN del VHB en el hígado (con o sin ADN-VHB detectable en suero) para las personas con prueba HBsAg negativo. Estos expertos también presentaron un valor de corte para el ADN del VHB <200 UI/mL. Una concentración sérica mayor de 200 UI/mL debe ser interpretada como una infección causada por mutantes de escape, y no es una infección oculta por el VHB. Sin embargo, otros expertos prefieren la definición tradicional: la presencia de ADN del VHB en la sangre o los tejidos del hígado en pacientes negativos para HBsAg, con o sin anticuerpos del VHB. Los pacientes con infección oculta por el VHB fueron clasificados como seronegativos, cuando ambos HBcAc y HBsAc son negativos, o seropositivos cuando HBcAc y/o HBsAc está presente (Romero *et al.*, 2011).

El estado de portador inactivo generalmente tiene un curso benigno, pero puede ser reactivado espontáneamente o por inmunosupresión. En realidad hasta un tercio de pacientes van a otra transición, con incremento del DNA VHB (100,000 a 1 millón de copias por mililitro) y elevación de las aminotransferasas y

de la actividad de la enfermedad sin reaparición del HBeAg. Esta fase es referida como Fase de Hepatitis B Crónica HBeAg negativa y su consecuencia puede ser tan severa (o más) que la enfermedad HBeAg positiva. La base molecular para esta forma de la enfermedad parece ser el desarrollo de una variante del VHB que es incapaz o solo pobremente capaz de producir HBeAg. La mayoría de estos pacientes tienen una variante en la región precore o promotor del core. La mutación más común precore es un cambio de G a A en el nucleótido 1896 (G1896A) que impide la producción de HBeAg; la forma de hepatitis crónica B HBeAg negativa es más frecuente con los genotipos B, C y D y menos frecuentes con el genotipo A y es caracterizada por marcadas fluctuaciones en los niveles séricos de DNA VHB y aminotransferasas (Gonzales y Salinas; 2009). Estas variantes son más comunes en los países del Mediterráneo y Asia. La aparición del anticuerpo HBeAc no necesariamente indican una mejoría clínica. Los niveles de ADN del VHB en estos temas tienden a ser inferiores (Ocana *et al.*, 2011).

En pacientes inmunosuprimidos y excepcionalmente con serología pasada de hepatitis B pueden sufrir reactivación del VHB caracterizada por carga viral elevada ( $\geq 1 \log \text{ UI / ml}$ ), recurrencia de HBeAg y HBsAg, y aumento de las transaminasas por encima de los valores basales. Tal reactivaciones suelen ser asintomáticas, pero pueden en ocasiones derivar hacia la hepatitis clínica según la definición de alanina transaminasa 3 veces su valor basal junto con el desarrollo de ictericia y otros síntomas de hepatitis aguda (Álvarez *et al.*, 2010).

En los pacientes VIH+ se debe realizar la determinación de marcadores del VHB y, si resultan negativos, proceder a la vacunación. Estos pacientes presentan una respuesta humoral más débil frente a la vacuna del VHB, especialmente si los linfocitos CD4+ se encuentran por debajo de 500 células/l, y pierden los

anticuerpos protectores más rápidamente, con riesgo de infección aguda en el caso de exposición (Toro *et al.*, 2006).

### **2.2.13 Métodos diagnósticos**

La hepatitis B se diagnostica y clasifica evaluando una compleja combinación de antígenos y anticuerpos contra el VHB. Algunas pruebas determinan tres proteínas o antígenos asociados al VHB: antígeno de superficie (HBsAg), antígeno central o core (HBcAg) y antígeno e (HBeAg). El sistema inmunitario produce tres anticuerpos correspondientes contra estos antígenos: anticuerpo contra el antígeno de superficie (HBsAc), anticuerpo contra el core (HBcAc) y anticuerpo contra el antígeno e (HBeAc). La presencia de HBsAg o de ADN del VHB en la sangre indica que la persona afectada tiene hepatitis B en ese momento (Franciscus *et al.*, 2008).

El HBsAg se encuentra presente en suero dos o seis semanas antes de la evidencia bioquímica de daño hepático y permanece positivo a través del curso de la infección. Entre dos y cuatro semanas después de que se presenta el HBsAg, aparecen los anticuerpos IgM del HBcAg los cuales son el marcador serológico estándar para el diagnóstico de hepatitis B aguda (Sánchez y Panduro, 2005).

La presencia de HBsAc en ausencia de HBsAg muestra que la enfermedad ya no está activa y la presencia de HBeAg indica a menudo que el virus se está multiplicando activamente y que los afectados son sumamente infecciosos y corren un mayor riesgo de sufrir daños hepáticos. Durante mucho tiempo, la ausencia del HBeAg se ha considerado indicativo de que el tratamiento resultaba eficaz. Sin embargo, cuando una persona ha tenido hepatitis B durante muchos años, es posible que resulte negativa al HBeAg pero siga teniendo la infección activa y una elevada carga viral. Estos casos se conocen como hepatitis B negativa al HBeAg, y se producen cuando el virus muta y es capaz de multiplicarse sin necesidad de HBeAg (Franciscus *et al.*, 2008). La tabla 2 especifica los marcadores serológicos de la infección crónica con el VHB, y los escenarios donde la reactivación del VHB puede ocurrir (Álvarez *et al.*, 2010).

A pesar de que el diagnóstico serológico del VHB es el más completo, ya que podemos detectar los antígenos y los anticuerpos; el diagnóstico molecular es más sensible y específico, detecta directamente el material genético del virus, ya sea en forma libre o integrado en células hepáticas o leucocitos. Existen diferentes métodos para la detección del DNA viral: a) métodos de hibridación de ácidos nucleicos; tales como el dot-blot, slot-blot, Southern-blot, DNA ramificado y b) métodos de amplificación de los cuales el más representativo es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Sánchez y Panduro, 2005).

<b>TABLA 2.</b> Perfiles serológicos de la infección crónica con el VHB y escenarios de reactivación del VHB							
	<b>HBV DNA</b>	<b>HBsAg</b>	<b>HBeAg</b>	<b>HBsAc</b>	<b>HBeAc</b>	<b>HBcAc</b>	<b>Transaminasas</b>
<b>Inmuno-tolerancia</b>	Alto (> 20,000 IU/ml)	+	+	-	-	+	Normal

<b>Hepatitis crónica, HBeAg +</b>	Alto (> 20,000 IU/ml)	+	+	-	-	+	Alta
<b>Hepatitis crónica, HBeAg -</b>	Alto (> 20,000 IU/ml)	+	-	-	+	+	Alta
<b>Portador inactivo*</b>	- o + (< 2,000 IU/ml)	+	-	-	+	+	Normal
<b>Antes del VHB</b>	-	-	-	+	+	+	Normal
<b>VHB oculta*</b>	+/- (presentes en los hepatocitos)	-	-	-	+	+	Normal
<b>Vacunados</b>	-	-	-	+	-	-	Normal

\* Perfiles de riesgo serológicas para la reactivación del VHB.

#### 2.2.14 Coinfección HIV/VHB

El VHB y el VIH comparten una serie de características. Estas incluyen las vías de transmisión (vertical, parenteral, y sexual); replicación mediante una enzima transcriptasa inversa, que actúa como una ADN polimerasa ARN-dependiente, proporción a establecer infecciones crónicas que a menudo son difíciles de tratar con los agentes actualmente disponibles contra el virus y finalmente, su genoma tiene una gran capacidad de mutar lo que conduce a la rápida aparición de cepas mutantes, algunas de las cuales son resistentes a aplicar ampliamente agentes antivirales. Por último, los genomas virales pueden integrarse en el genoma del huésped, un proceso que es obligatorio para el ciclo de vida del VIH, pero no para VHB (Mphahlele, 2008).

La seroconversión espontánea de HBsAg y HBeAg (la pérdida de HBsAg con el desarrollo del HBsAC y la pérdida de HBeAg con el desarrollo del HBeAc

respectivamente) es menos probable en la coinfección. A pesar de las elevaciones de enzimas hepáticas en los pacientes coinfectados a menudo son más leves en comparación con los pacientes de una sola infección, la fibrosis avanza a una mayor rapidez en los coinfectados que en la infección sola por HBV. Este incremento del avance de la enfermedad hepática en pacientes infectados por VIH enfatiza la importancia de evaluar a personas para el tratamiento de la hepatitis B (Levy *et al.*, 2007).

Los mecanismos subyacentes de la respuesta inmune adaptativa al VHB en pacientes HIV coinfectados también pueden ser útiles en la comprensión y control de la progresión de la enfermedad VIH/VHB. La activación de las células T CD8+ VHB específicas, juegan un papel clave tanto en el control de la replicación del VHB y en la patogénesis de la enfermedad del hígado, donde es claramente afectado en infección concomitante por VIH. Esto podría explicar por qué la infección aguda por VHB tiende con frecuencia a evolucionar hacia la cronicidad en pacientes coinfectados por el VIH (Lacombe *et al.*, 2010).

La coinfección VIH/VHB se asocia con mayores niveles de ADN del VHB y menor alanina amino transferasa (ALT). Cuanto más bajo son los niveles de ALT es indicativo de una menor destrucción de hepatocitos, posiblemente debido a una respuesta deprimida de células T VHB específicas, lo que sugiere que otros factores pueden estar involucrados en la conducción del hígado a progresión de la enfermedad (Iser *et al.*, 2010).

En los Estados Unidos, Europa y Australia, aproximadamente 6 a 7% de las personas infectadas con el VIH-1 también son coinfectadas con el VHB. La enfermedad hepática es ahora una comorbilidad importante en las personas infectadas con VIH-1 (Chang *et al.*, 2005).

Los pacientes coinfectados VIH/VHB que se encuentran en un mayor riesgo de desarrollar cirrosis, son los que tengan mayores niveles de replicación del VHB,

que presenten una menor tasa de resolución espontánea de la infección por el VHB, y que poseen un mayor riesgo de reactivación de infecciones previas (Olufemi *et al.*, 2009).

El impacto del VHB en la historia natural de la infección por el VIH sigue siendo objeto de debate. La investigación epidemiológica ha revelado una progresión acelerada a causa del SIDA y una tasa de reducción de la supervivencia entre los sujetos coinfectados (Nikolopoulos, *et al.*, 2009).

Los principales objetivos del tratamiento son detener o disminuir la progresión de la enfermedad hepática y para prevenir la cirrosis y carcinoma hepatocelular. Los pacientes coinfectados por el VIH con poca frecuencia logran la seroconversión del HBeAc. La seroconversión sigue siendo un objetivo, pero un objetivo virológico más realista es la supresión prolongada de la replicación del VHB. La consecución de este mito conduce a la mejoría histológica, una disminución significativa o la normalización de las aminotransferasas, y la prevención de la progresión a cirrosis en hígado. El control viral sostenido requiere un mantenimiento a largo plazo de la terapia. Cursos a corto plazo suelen ser poco prácticos, incluso en pacientes mono infectados con VHB. Esto se debe a que el ADN viral circular cerrado covalentemente persiste en el hígado a pesar de una carga viral reducida en el suero. La interrupción del tratamiento, sobre todo de lamivudina, se ha asociado con la reactivación del VHB y ALT. El inconveniente de la terapia a largo plazo es la posibilidad de la resistencia (Benhamou, 2007).

Los criterios para el inicio del tratamiento incluye lo siguiente: ADN del HBV >10<sup>4</sup> copias/mL, niveles de ALT por lo menos dos veces más del borde superior del rango normal o evidencia de fibrosis en la biopsia del hígado. Si se toma la decisión de postergar la terapia para HBV, se debe hacer seguimiento a los niveles de ALT y ADN del HBV cada cuatro a seis meses (Levy *et al.*, 2007).

No está claro si el tratamiento del VHB en los pacientes coinfectados mejora el curso de la infección por el VIH, y tampoco existen pruebas de que el tratamiento del VIH altere la historia natural del VHB. Sin embargo, puede haber complicaciones atribuibles a la toxicidad de los fármacos antirretrovirales que puede afectar el tratamiento del VIH en pacientes con coinfección por el VHB (MPPS, 2008).

#### 2.2.15 Virus linfotrópico de células T en humanos (HTLV)

El HTLV-1 es un retrovirus leucemogénico complejo con un genoma de ARN en sentido positivo que expresa proteínas únicas con potencial oncogénico. Cuatro cepas son conocidas de HTLV, de las cuales el HTLV-1 y HTLV-2 son las más prevalentes en todo el mundo. El HTLV-1 se identificó originalmente en 1980 en una línea de células T derivada de un paciente con linfoma cutáneo de células T y también fue detectado en pacientes con leucemia de células T posteriormente, el HTLV-2 se identificó en una línea celular derivada de un paciente con una variante de leucemia de células T. Desde entonces, el HTLV-2 no se ha asociado con la leucemia / linfoma, sin embargo, se ha asociado con unos pocos casos esporádicos de trastornos neurológicos (Kannian y Green, 2010).

El HTLV-1 es un retrovirus que infecta principalmente a células T CD4<sup>+</sup> induce la producción elevada espontánea de citoquinas Th1, como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e interleucina 2 (IL-2) (Gaspar *et al.*, 2010).

Se estima que el 10-20 millones de personas en todo el mundo están infectados con HTLV-1 o HTLV-2 (Brites *et al.*, 2009). No todas las personas infectadas con HTLV-1 desarrollarán complicaciones; hasta 90% de los portadores

del HTLV-1 permanecen asintomáticos. Sin embargo, el 10% restante desarrolla enfermedades asociadas a HTLV-1. Algunas de estas enfermedades asociadas pueden ser muy severas, como el linfoma/leucemia de células T del adulto (ATLL) y mielopatía asociada a HTLV-1 (HAM) o paraparesia espástica tropical (TSP) (Gotuzzo *et al.*, 2010).

### 2.2.16 Estructura

El virus HTLV-1 es un virus que pertenece al género Deltaretrovirus, familia Retroviridae. Es un virus de forma redonda, con envoltura de aproximadamente 100 nm de diámetro. La envoltura del virión muestra una bicapa proteolipídica sobre la membrana celular con transmembrana viral y proteínas de superficie. La cápside icosaédrica permite la protección del ARN viral y las enzimas virales (proteasa funcional, transcriptasa inversa, y la integrasa. El transportador de Glucosa 1 (GLUT-1) es el receptor de la célula huésped probable para el virus, aunque el virus es capaz de infectar células sin expresión de GLUT-1, lo que sugiere que otros mecanismos están implicados (Brtites *et al.*, 2009).

El genoma de HTLV-1 es de aproximadamente 9.032 nucleótidos de longitud y en su forma integrada proviral contiene dos secuencias acompañando la repetición terminal larga (LTR). Las LTR'S de HTLV-1 se combina en 3 componentes, la región única 3', la región repetida y la región única 5'. Estas secuencias son fundamentales para la regulación de genes y la replicación viral como iniciación y terminación de la transcripción, empalme y poliadenilación del ARNm y la transferencia de cadenas durante la transcripción inversa (Lairmore *et al.*, 2011).

El genoma del HTLV-1 es empaquetado en el núcleo viral con la proteína de la nucleocápside viral (NC p15), que está rodeado por la cápside (CA p24) y matriz proteica (MA p19). El genoma del HTLV-1 codifica las proteínas estructurales Gag (NC, CA y MA) envoltura (*env*) y las polimerasas transcriptasa inversa (RT), RNasa H (RH), integrase (IN), y proteasa (Pro) (Figura 8). El gen *env* codifica la unidad de superficie gp46 y la unidad de transmembrana gp21 (Hoshino, 2012). Estas proteínas son responsables de la unión y la fusión de las membranas celulares durante la entrada del virus (Lairmore *et al.*, 2011).

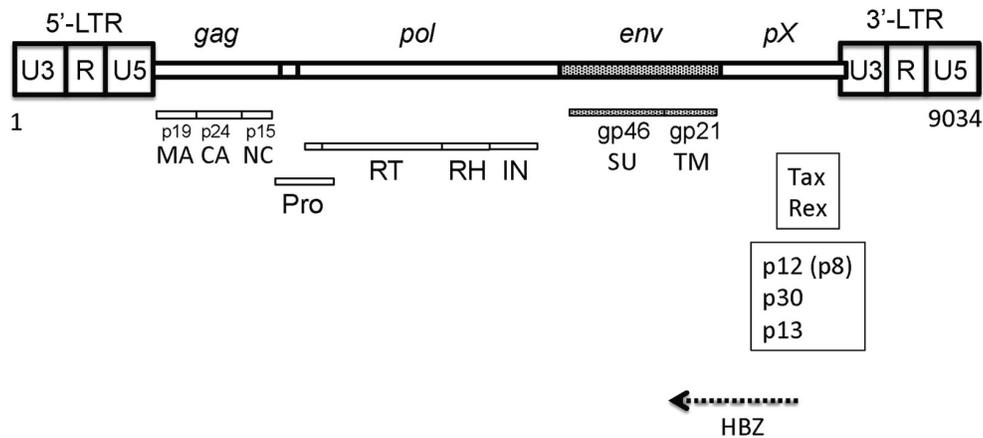


Fig. 8 Estructura del genoma de HTLV-1. El gen *gag* codifica la matriz (MA), cápside (CA), y proteínas de nucleocápside (NC). El gen de *pol* codifica transcriptasa inversa (RT), RNaseH (RH), y la integrasa (IN). La región *pX* codifica p13, p12, p30, etc. HBZ se codifica por el marco anti-sentido del provirus (Hoshino, 2012).

Los genes de la región *pX* son empalmados alternativamente, y a partir de diferentes sitios iniciales. Al abrir marco de lectura I y II se codifican p12 (p8), p30 y p13. Tax, es el activador transcripcional y Rex, el transportador de ARN viral empalmados y sin empalmar (Lairmore *et al.*, 2011).

Tax ha mostrado ser potencialmente oncogénico en varios sistemas experimentales y es esencial para la transformación de las células T humanas mediada por HTLV-1 y HTLV-2. Rex actúa post-transcripcionalmente para la estabilización y exportación selectiva del intrón que contienen los ARNm virales desde el núcleo hasta el citoplasma. Los genes accesorios, p12/p8 codificadas por el marco de lectura abierto I y p30/p13 por el marco de lectura abierto II son prescindibles en ensayos de inmortalización estándar, pero son esenciales para la iniciación de la infección viral y el establecimiento de la persistencia en modelos animales. P8 es producto de una escisión proteolítica de la molécula de matriz p12, mientras que el polipéptido p13, que comprende el extremo carboxi de p30, se expresa a partir de un ARNm distinto. La cadena negativa del genoma proviral codifica varias isoformas del factor de cremallera de leucina básica (HBZ). El HBZ interactúa con factores celulares para modular tanto la transcripción de genes virales y celulares. El HBZ también juega un papel crucial en la proliferación de las células T. Entre todas las proteínas virales, la evidencia experimental implica a Tax como la proteína viral oncogénica, pero los datos emergentes sugieren un papel de apoyo para HBZ en el proceso oncogénico (Kannian y Green, 2010).

El HTLV-2 tiene una estructura genómica similar y homología de aproximadamente el 70% de secuencia de nucleótidos con HTLV-1 (Goncalves *et al.*, 2010).

### 2.2.17 Mecanismo de transmisión

Las rutas establecidas de la infección son sexual, parenteral (transfusión de sangre, al compartir agujas o exposición percutánea), y vertical (por medio de la lactancia materna) (Brites *et al.*, 2011).

Tres modos de transmisión son conocidos por el HTLV-1 (1) madre a hijo, la eficiencia varía de 10 al 20% y se produce después de la lactancia materna prolongada, sobre todo después de 6-9 meses de edad. (2) transmisión sexual, los estudios japoneses demuestran claramente una mayor eficiencia de la transmisión es de hombre a mujer que de mujer a hombre. Estas diferencias podrían explicar la mayor seroprevalencia del HTLV-1 que se observa en las mujeres. (3) la transmisión por vía intravenosa, principalmente a través de transfusión de sangre que parece ser el modo más eficaz para la transmisión del HTLV-1 (Journó y Mahieux, 2011)

A diferencia del VIH-1, la transfusión de células enteras se requiere para la transmisión del virus, con una tasa de seroconversión de aproximadamente 50% sin embargo, el riesgo de transmisión disminuye notablemente si las unidades de sangre se almacenan durante más de seis días antes de la transfusión (Kannian y Green, 2010).

La ruta más natural de transmisión del HTLV-1 es a través de madres infectadas, que dan pecho a sus hijos y como resultado la transferencia de linfocitos infectados. La contaminación perinatal del feto a partir de sangre materna infectada se produce, pero no representa un modo importante de transmisión del HTLV-1 (Lairmore *et al.*, 2011).

Por último, la tasa de transmisión sexual es de un 60% de los hombres a las mujeres, pero sólo de un 0,4% de las mujeres a los hombres. Los factores predisponentes asociados con la transmisión sexual incluyen la presencia de úlceras genitales, cargas virales elevadas y altos títulos de anticuerpos en el individuo infectado (Kannian y Green, 2010).

### 2.2.18 Replicación y ciclo infectivo

El HTLV pertenece a la familia Retroviridae. Por definición este retrovirus infecta con genomas de ARN viral a las células y utilizan la transcriptasa inversa codificada para sintetizar una copia de ADN que se integra al genoma de la célula huésped, el material cromosómico les permite utilizar la maquinaria transcripcional de la célula huésped para sintetizar componentes necesarios para la replicación viral (Irish *et al.*, 2009).

Los retrovirus pueden emplear una variedad de diferentes proteínas de superficie celular como receptores para la unión y la entrada en las células huésped. La entrada implica una interacción entre la glicoproteína de superficie de la envoltura del virus y el receptor celular (Abbaszadegan *et al.*, 2008).

Una partícula viral recién sintetizada se une al receptor de la célula diana a través de la envoltura viral y entra a través de la fusión, que es seguido por la pérdida de la cápside y la liberación de su contenido en el citoplasma celular (Kannian y Green, 2010).

El ARN viral se transcribe de forma inversa en ADN de doble cadena mediante transcriptasa inversa, el cual se transporta entonces al núcleo y se integra al genoma del huésped, formando el provirus (Hoshino, 2012).

El provirus HTLV-1 se integra en el genoma de la célula infectada, sobre todo en Linfocitos TCD4+. Durante la fase crónica de la infección hay poca producción de ARN viral, y la propagación de la infección se realiza por medio de la proliferación clonal de los linfocitos infectados (Norris *et al.*, 2010).

Posteriormente, la infección del HTLV-1 se cree que se disemina únicamente por las células en división, con la producción de partículas mínimas.

Por lo tanto, la cuantificación de provirus refleja el número de las células infectadas por HTLV-1, lo que define la carga proviral (Goncalves *et al.*, 2010).

El mecanismo de acción que facilita la transmisión célula a célula del HTLV-1 no se resuelve, pero recientemente varios grupos han informado de datos sobre tres principales receptores celulares: el transportador de glucosa (GLUT-1), proteoglicanos de sulfato de heparina y neuropilina-1. Estudios anteriores han demostrado que el GLUT-1 participa sobre la fusión de célula a célula. Los proteoglicanos sulfato de heparina se unen a las partículas del virus en la superficie celular y facilita la entrada. La Neuropilina-1 es parte de la sinapsis inmunológica y es una pareja de unión de Env (Lairmore *et al.*, 2011).

En el caso de HTLV-1, la integración podría iniciar una serie de eventos moleculares y de señalización que conduce a procesos oncogénicos en el compartimento de las células T CD4+ que lleva a la malignidad dentro de esta población de células inmunes (Irish *et al.*, 2009).

El mecanismo preciso por el cual estos virus transforman las células T no se entiende completamente, sin embargo, un número de proteínas virales se han implicado a desempeñar un papel en la patogénesis y transformación de células T inducida por HTLV. El HTLV-2 presenta diferencias en tropismo y transformación del HTLV-1, donde el HTLV-1 se transforma preferentemente células T CD4+, tanto in vitro como in vivo mientras que el HTLV-2 se transforma células T CD8+ en ensayos de co-cultivo in vitro. La envoltura viral confiere este tropismo transformación distinta, la cual tiene dos glicoproteínas, el componente de la superficie (SU) y el componente transmembrana (TM). El SU se une al receptor celular, mientras que TM desencadena la fusión de las membranas viral y celular, facilitando la entrada del virus. Los estudios de unión han apoyado el papel de la cubierta del virus en la clara transformación por tropismo mostrando que el HTLV-1 se une a proteoglicanos de sulfato de heparina (HSPG) en Células T CD4+.

mientras que el HTLV-2 se une a transportador de glucosa 1 (GLUT-1) en células T CD8+ (Kannian y Green, 2010).

La gran mayoría de los individuos infectados con el HTLV-1 montan una fuerte y persistente respuesta inmune a través de la actividad de los linfocitos T citotóxicos. El principal antígeno inmunodominante que reconocen los LTC (específicos contra el HTLV-I) es la proteína Tax del virus, siendo los linfocitos CD4+ la principal subpoblación que lo expresa. La permanente expresión de la Tax en dichas células puede conducir a la activación crónica de la respuesta inmune citotóxica y se piensa que puede contribuir a la patogénesis de las enfermedades asociadas al HTLV-I (Arias *et al.*, 2004).

#### 2.2.19 Patagonia y patología

En el intento de controlar el agente infeccioso la respuesta del sistema inmune daña el propio tejido nervioso, debido a una respuesta proinflamatoria exagerada. La carga proviral elevada es el factor de riesgo más evidente para la transición desde el estado de portador asintomático a mielopatía y enfermedades inmunomediadas. Además, hay ciertos alelos HLA, que son activos en la modulación de la respuesta inmune y confieren un factor de susceptibilidad o protección (Ferreira *et al.*, 2010).

El HTLV-1 provoca cambios sutiles en la función de células inmunes, incluyendo la proliferación espontánea de linfocitos, en un gran porcentaje de los sujetos infectados. Se ha tratado de entender cuáles subgrupos de linfocitos proliferan de forma espontánea en la infección por HTLV-1, los factores asociados con la proliferación, y cómo éstos se refieren a la evolución grave de la enfermedad (HAM/TSP) (Norris *et al.*, 2010).

La respuesta inmune, y en particular la celular, juega un papel importante en el control de la infección HTLV-1. Los estudios *in vitro* demuestran además que la respuesta de las células T CD8+ son capaces de lisar directamente las células T

CD4+ infectadas por HTLV-1. En los pacientes con HAM/TSP, las células T CD8+ son capaces de producir múltiples citoquinas y liberar moléculas citotóxicas (Ndhlovu *et al.*, 2011).

Una razón de la persistencia de la infección por HTLV-1 en el huésped puede ser la capacidad del virus para evadir la respuesta del sistema inmune. Un posible mecanismo por el cual el HTLV-1 elude la respuesta inmune es mediante la modulación de la expresión del complejo principal de histocompatibilidad clase I (moléculas en la superficie de las células infectadas por antígenos específicos HTLV-1) permitiendo su escape de reconocimiento y destrucción por linfocitos T citotóxicos (Banerjee *et al.*, 2007).

La mayoría de las personas infectadas por el HTLV permanecen asintomáticas. Los pacientes que muestran signos o síntomas han estado expuestos a la infección por largos períodos antes de que se manifiesten. Un número de factores diferentes están involucrados en la interacción virus/huésped y en la transición desde el estado asintomático hasta la aparición de una enfermedad asociada con el HTLV-1. La relación entre el HTLV-2 con las enfermedades neurológicas y sistémicas no han sido definidas, aunque parecen ser menos frecuentes y menos severas (Ferreira *et al.*, 2010). Sin embargo, ha habido informes esporádicos de HTLV-2 asociado a encefalomielopatía crónica. Los síntomas clínicos presentados son similares a los de HAM/TSP. Aunque otros trastornos neurológicos se han informado, su clara asociación con el HTLV-2 es obstaculizada por factores de confusión tales como el uso de drogas por vía intravenosa o infección concomitante por el VIH (Kannian y Green, 2010).

Se sabe muy poco sobre la historia natural de infección por HTLV-1. En concreto hay una diferencia relacionada con la información sobre el tiempo entre la infección y la aparición de manifestaciones clínicas objetivas. La patogénesis de las enfermedades asociadas con el HTLV-1 se ha correlacionado con una elevada

carga proviral y una exagerada respuesta inmune que conduce a cambios inflamatorios (Poetker *et al.*, 2011).

Al interferir con la reproducción y la función de los linfocitos T, HTLV-1 puede causar patologías muy diversas. Proponemos clasificar las enfermedades asociadas a HTLV-1 en tres categorías: (a) neoplasias, principalmente ATLL y linfoma cutáneo, (b) síndromes inflamatorios, como TSP, uveítis, tiroiditis y alveolitis, y (c) complicaciones infecciosas, incluyendo estrongiloidiasis, sarna, tuberculosis, y dermatitis infectiva (Gotuzzo *et al.*, 2010).

Está aceptado actualmente que las patologías asociadas al HTLV-1 podrían resultar de la expresión de una secuencia en el genoma viral, llamada *px* que codifica al activador transcripcional (proteína transactivadora) Tax, una oncoproteína pleotrópica de 40 KDa, que induciría la expresión de algunos genes celulares y la disregulación de otros. Ello iniciaría un proceso de activación y proliferación linfoide T con eventos sucesivos que conducirían a: un proceso inflamatorio crónico en el caso del HAM/ TSP, o a una transformación maligna en el caso de la ATLL. Tax modula la expresión y función de numerosos genes de las células que infecta, siendo una de las llaves de la replicación viral. Tax ejecutaría: a) activación y represión de diferentes grupos de genes celulares a través de la unión a factores transcripcionales y coactivadores; b) disregulación del ciclo celular por intermedio de la unión a inhibidores de la CDK4/6; y c) inhibición de algunas proteínas supresoras tumorales (Arias *et al.*, 2004).

Entre las principales patologías asociadas tenemos la **HAM /TSP**. Esta se define principalmente como una paraparesia espástica resultado de una inflamación inmune crónica. La HAM/TSP es un trastorno lentamente progresivo: después de 10 años, aproximadamente el 50% de los pacientes están limitados a una silla de ruedas. Los posibles mecanismos que explican cómo el HTLV-1 provoca HAM/TSP incluyen: (1) toxicidad directa causada por linfocitos T

citotóxicos específicos a HTLV-1, (2) autoinmunidad, o (3) daños causados por citocinas como el TNF- $\alpha$  (Journó y Mahieux, 2011).

El inicio de la HAM/TSP ocurre típicamente en sujetos más jóvenes infectados con HTLV-1 y está más estrechamente relacionado con la transfusión de productos sanguíneos infectados, mientras que ATL se ha relacionado con la transmisión por la leche materna de madres infectadas. Además de la vía de exposición y las diferencias inherentes en la respuesta inmune primaria asociada, los siguientes factores probablemente desempeñan un papel importante en la génesis y progresión del cáncer y/o enfermedad neurológica causada por el HTLV-1: (i) la arquitectura genómica viral, (ii) genética del huésped humano, (iii) la carga de ADN proviral de HTLV-1, (iv) Los niveles relativos de ARN positivos de células T CD4+ / CD25+ de HTLV-1-específicos, v) Las concentraciones de las proteínas virales extracelulares secretadas, como el Tax, (vi) El impacto de las proteínas virales extracelulares en las células de origen del sistema inmune y nervioso, (vii) los niveles relativos de anticuerpos específicos HTLV-1 que exhiben reactividad cruzada con las proteínas celulares, (viii) los niveles relativos de linfocitos T CD8+ de HTLV-1 específico (Irish *et al.*, 2009).

La HAM/TSP afecta principalmente a la médula espinal torácica y los pacientes suelen presentar incontinencia urinaria, ataxia, temblores y paraparesia de miembros. La infiltración de linfocitos específicos T CD8+ y CD4+ de HTLV-1 en la médula espinal conduce a la inflamación severa con producción de citocinas proinflamatorias como la IL-1, IL-6, IFN- $\alpha$  y TNF- $\alpha$ . La acumulación de citoquinas proinflamatorias conduce a la desmielinización y meningomielitis linfocítica (Lairmore *et al.*, 2011).

La HAM/TSP se caracteriza por la sobre-estimulación del compartimiento inmunológico, incluyendo el aumento de expresión de un repertorio de citoquinas inflamatorias y quimiocinas, anticuerpos específicos dirigidos contra un número de

factores determinantes celulares y un aumento en el número de células T CD8+ circulantes altamente activadas tanto en sangre periférica y líquido cefalorraquídeo. En la fase aguda de HAM/TSP, se ha demostrado que células T CD4+ y CD8+ se acumulan en las lesiones de la médula espinal, sin embargo, durante enfermedades crónicas, los linfocitos T CD8+ son las células predominantes en los infiltrados de las regiones de desmielinización (Irish *et al.*, 2009).

Datos apoyan un papel protector importante en la respuesta inmune de células T CD8+ para el control potencial del virus, mientras otros estudios sugieren que las células T CD8+ HTLV-1 específicas pueden paradójicamente, contribuir a la inmunopatología neuromuscular a través de mecanismos autoinmunes, que conducen a la manifestación clínica de HAM/TSP (Ndhlovu *et al.*, 2011).

La disfunción eréctil y los síntomas urinarios pueden ser señal de una etapa inicial de HAM/TSP. Durante las fases iniciales de la mayoría de los síntomas son la nicturia, incontinencia urinaria y disuria, avanzando a la micción por esfuerzo y vaciamiento incompleto de la vejiga. La disfunción eréctil se informó en el 88,2% de los pacientes con HAM/TSP, en comparación con una tasa del 17% en la población general (Ferreira *et al.*, 2010).

Por otro lado tenemos **la leucemia/linfoma de células T del adulto (ALLT)** la cual es una linfoproliferación maligna de células T CD4+ que se caracteriza por la integración clonal del provirus de HTLV-1 en las células tumorales (Journo y Mahieux, 2011).

Sólo alrededor del 1% de portadores asintomáticos progresa a ATL, se produce después de aproximadamente 2-4 décadas de latencia clínica. Por el contrario, para la progresión de la enfermedad HAM/TSP, normalmente se da dentro de unos pocos años de la infección. En cualquiera de los casos, el virus ha evolucionado conjuntamente con su hospedador a mantener durante toda la vida

persistencia de una exacerbación ocasional de manifestaciones patológicas (Kannian y Green, 2010).

La probabilidad de que las personas infectadas desarrollarán ATL es del 4% (Ferreira *et al.*, 2010). La interacción prolongada y relación compleja entre el huésped y el virus que llevan al desarrollo de ATL no han sido aclaradas. La Tabla 3 muestra las cuatro clasificaciones principales de ATL (Lairmore *et al.*, 2011).

<b>Tabla 3. Formas de presentación clínica de leucemia / linfoma de células T del adulto</b>	
<b>Tipo ATL</b>	<b>Presentación clínica</b>
Indolente	Recuento de glóbulos blancos normal, con menos de 3% de linfocitos atípicos. Limitado a las lesiones cutáneas.
Crónica	Linfocitosis, lesiones de la piel, hígado y el pulmón, adenopatías.
Linfomatosa 10-15%	Linfoma de células T no Hodgkin. Recuento de glóbulos blancos normal, con 1% o menos de linfocitos atípicos. Daño cutáneo y predominan linfadenopatías. Se pueden presentar daños en el sistema nervioso central.
Leucemia 75%	Leucemia de células T, con hipercalcemia, lesiones osteolíticas, adenopatías, afectación visceral o leptomeníngea, infecciones oportunistas.

Un mayor recuento de leucocitos, elevación de deshidrogenasa láctica (DHL) y los niveles de calcio son los marcadores de peor pronóstico. Los linfocitos atípicos que son pleomórficos, lobulados y con importantes anomalías nucleares (Células en flor) se encuentran en la sangre periférica. Si no se trata rápidamente es fatal, la muerte es causada por complicaciones pulmonares, infecciones oportunistas, sepsis e hipercalcemia (Ferreira *et al.*, 2010). En la tabla 4 se

resumen las características clínicas de las enfermedades y síndromes asociados a HTLV-1 (Lairmore *et al.*, 2011).

En los últimos diez años, se ha acumulado evidencia de que, además de HAM/TSP y ATLL, la Infección por HTLV-1 es capaz de causar una variedad de enfermedades incluyendo uveítis, la enfermedad periodontal, síndrome seco, artropatía asociada por HTLV-1, y un gran número de enfermedades neurológicas. Es especialmente llamativo que estos hallazgos se producen en un grupo grande de individuos tradicionalmente considerado como portadores asintomáticos de HTLV-1. La Tabla 5 resume las entidades clínicas más comunes asociadas con el HTLV-1 (Goncalves *et al.*, 2010)

<b>Tabla 4. HTLV-1 asociado a enfermedades y síndromes</b>	
<b>Enfermedad o Síndrome</b>	<b>Características clínicas y resultados patológicos</b>
<b>Mielopatía asociada a HTLV-1 / paraparesia espástica tropical (HAM / TSP)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Espasticidad de extremidades inferiores, hiperreflexia, trastornos y debilidad muscular, incluyendo la disfunción del esfínter de la vejiga urinaria y los intestinos; clínicamente pueden solaparse con la esclerosis múltiple.</li> <li>✓ Mielopatía crónica progresiva, con el daño preferencial de la médula espinal torácica.</li> <li>✓ Desarrollo de lesión temprana caracterizada por infiltrados compuestos predominantemente por macrófagos, células T CD4+, y niveles detectables de tax RNA HTLV-1 en las lesiones.</li> <li>✓ Se caracteriza por múltiples lesiones de sustancia blanca, tanto en la médula espinal y cerebro que implica la desmielinización perivascular y degeneración axonal, raramente, síndrome cerebeloso con ataxia y temblor intencional.</li> <li>✓ Lesiones tardías (&gt; 4 años) predominan las células T CD8+ con menos tax RNA.</li> </ul>

	<p>✓ El líquido cefalorraquídeo contiene altos niveles de citoquinas proinflamatorias, incluyendo IFN-<math>\gamma</math>, TNF-<math>\alpha</math>, IL-1 e IL-6, así como un mayor número de linfocitos activados.</p>
<p><b>La leucemia / linfoma de células T del adulto (ALLT)</b></p>	<p>✓ Cuatro clasificaciones basadas en los signos clínicos incluyen: asintomático, pre-leucemia crónica ardiente y agudo</p> <p>✓ Los síntomas clínicos pueden incluir malestar general, fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, hipercalcemia, lesiones óseas líticas, deshidrogenasa láctica elevada, aumento de receptor de la interleucina 2, infiltrado en la piel, ictericia, pérdida de peso, y varias infecciones oportunistas, como <i>Pneumocystis carinii</i></p> <p>✓ Malignidad agresiva de los linfocitos T, que se caracteriza por múltiples marcadores de superficie celular distintos.</p> <p>✓ La leucocitosis puede incluir la morfología de las células atípicas, núcleo multilobulado (células como-flor).</p> <p>✓ Los criterios de diagnóstico incluyen seropositividad de HTLV-1, leucocitosis, aumento de los niveles séricos de IL-2 y receptor de LDH, demostración neoplásicas de las células T con morfología nuclear polilobulada (células-flor), y clonalmente genomas integrado HTLV-1 dentro de los cromosomas de linfocitos neoplásicos.</p>

Los mecanismos relacionados con la capacidad de HTLV-1 para aumentar la susceptibilidad o influir en el curso clínico de otras enfermedades no se entienden completamente (Gaspar-Sobrinho *et al.*, 2010)

Diversos estudios han evidenciado la asociación de la infección de HTLV-1 con endocrinopatías y otros trastornos metabólicos tales como enfermedades autoinmunes de la tiroides, hipercalemia, diabetes mellitus tipo I y pseudoparatiroidismo (Alves y Dourado, 2010).

Además, la infección por HTLV-1 puede influir en la respuesta del sistema inmunológico a otros agentes patógenos, aumentando la susceptibilidad y la modificación de las manifestaciones clínicas de la estrongiloidiasis, tuberculosis, la esquistosomiasis, y sarna. La patología relacionada con la infección por HTLV-1 se asocia con una respuesta inmune exagerada y modulación inapropiada con alta carga proviral (Gaspar-Sobrinho *et al.*, 2010).

<b>ABLA 5. Correlación entre las enfermedades asociadas con el HTLV-1 y las manifestaciones clínicas más comunes.</b>				
	<b>HAM/TSP</b>	<b>ALT</b>	<b>HTLV asociada a uveítis</b>	<b>Portador asintomático</b>
<b>Neurológico</b>	Polineuropatía		HAM/TSP	Polineuropatía
<b>Dermatológico</b>	Dermatitis infecciosa, ictiosis adquirida	Dermatitis infecciosa, sarna con costra		ictiosis adquirida, dermatofitosis
<b>Oftalmológico</b>	Uveítis		Uveítis, conjuntivitis	
<b>Urológico</b>	Incontinencia urinaria, disturbios sexuales			
<b>Reumatológico</b>	Polimiositis, tiroiditis, Síndrome de Sjogren, Artropatía		Síndrome de Sjogren	polimiositis, fibromialgia
<b>Pulmonar</b>	Neumopatía			
<b>Psiquiatría</b>	Depresión	Depresión		

<b>Infecciones</b>		Strongyloides stercoralis, Sarna, Tuberculosis, Lepra		
--------------------	--	---	--	--

### 2.2.20 Epidemiología

Las regiones endémicas con tasas relativamente más elevadas de infección por HTLV-1, se agrupan en el sur de Japón, el Caribe, Sur América, el sur de Estados Unidos, África ecuatorial y noreste de Irán (Abbaszadegan *et al.*, 2008).

Se estima que HTLV-1 infecta de 15 a 20 millones de personas en todo el mundo. La prevalencia de anticuerpos varía de 0,2 a 10% entre los adultos, dependiendo del área geográfica. En algunos lugares aumenta con la edad alcanzando eventualmente de 20 a 50% de la población femenina y por encima de los 60 años (Journo y Mahieux, 2011).

En pacientes infectados por HTLV-1, sólo el 6,6% de los varones y el 2,1% de las mujeres desarrollan ATL. El HTLV-2 es más frecuente entre los consumidores de drogas intravenosas (Kannian y Green, 2010).

Las altas tasas de prevalencia en la población general se observan en el sur de Japón (10%), en Jamaica y Trinidad y Tobago (6%), Guinea-Bissau, Camerún y Benin (5%). En América del Sur (Argentina, Brasil, Colombia y Perú) se observó una prevalencia del 2% de seropositividad entre donantes de sangre (Ferreira *et al.*, 2010).

La prevalencia media fue encontrada en donantes de sangre de Chile (0,73%) y Argentina (0,07%). En Brasil, Colombia y Perú, la prevalencia varía considerablemente de acuerdo a la zona y se han correlacionado con la latitud y la altitud en algunos países. En Brasil, la prevalencia más alta fue descrita en la zona

central y la costa (1,35%), con prevalencias bajas en el norte y el sur (0,08%). En Colombia, una prevalencia de 4,3% fue reportado para las zonas con baja altitud y 0,73% se informó en áreas de gran altitud (Goncalves *et al.*, 2010).

### 2.2.21 Métodos diagnósticos

De acuerdo con la norma brasileña, el cribado de HTLV-1/2 entre donantes de sangre debe ser realizada por una prueba muy sensible, tal como un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) o una prueba de químioluminiscencia. El uso de una segunda prueba para confirmar la reactividad de una muestra no es obligatorio. La mayoría de los bancos de sangre utilizan ELISA como prueba de cribado de HTLV-1/2. Si el resultado es positivo o indeterminado, la muestra se prueba de nuevo utilizando ELISA por duplicado. Si sigue siendo positivo o indeterminado, los productos sanguíneos asociados se descartan. Se le pide al donante que proporcione una segunda muestra, y si es ELISA-positivo o indeterminado, se utiliza para confirmar el estado serológico una prueba Western blot (WB). Este algoritmo tiene un alto costo, por lo que el uso de WB no está disponible en todos los centros de sangre de Brasil. Además, se genera una tasa relativamente alta de resultados no concluyentes, debido especialmente a la naturaleza de resultados indeterminados del WB. La detección del genoma viral de muestras usando PCR es un estándar de oro, con alta sensibilidad y especificidad. Su uso, que fue inicialmente restringido a los estudios de investigación, se está volviendo más y más aplicable a los servicios de rutina debido a la reducción en los costes de reactivos de biología molecular y la introducción de métodos de PCR en tiempo real (Gomes *et al.*, 2010).

Los resultados indeterminados en la prueba confirmatoria pueden ocurrir. Las razones más frecuentes para los resultados indeterminados son el período de

ventana, la presencia de una variante viral, y una reacción no específica del suero del paciente a los antígenos virales. El PCR HTLV-1 que detecta DNA proviral, se ha utilizado para aclarar los resultados indeterminados y también como prueba de confirmación (Goncalves *et al.*, 2010).

El agente causante y la importancia médica del estado seroindeterminado de HTLV-1 no están claros. Un número de posibles explicaciones se han proporcionado para esto, incluyendo (i) infección con una forma de HTLV-1 truncada o suprimida, (ii) la infección con un nuevo retrovirus teniendo una homología significativa con HTLV-1, y (iii) la infección con prototipo HTLV-1 con cargas virales que están por debajo de la gama de los métodos actuales de detección. Estudios previos han tenido un éxito limitado en el tratamiento de estas posibilidades. La presencia de la forma truncada de la proteína gp46 de HTLV-1 podría haber estado implicada como agentes potencial de enfermedad en un número de casos. Esta forma truncada de HTLV-1 podría teóricamente generar un patrón de bandas incompleto en un Western Blot HTLV-1 debido a la ausencia o alteración del epítipo inmunodominante vírico crucial (Abbaszadegan *et al.*, 2008).

El HTLV-1 es un virus que casi nunca sale de las células humanas. Por eso, a diferencia del VIH, la carga viral del HTLV-1 en plasma es indetectable. Sin embargo, existe una manera alternativa para estimar la cantidad de virus: la carga proviral. La carga proviral es la proporción de células mononucleares de sangre periférica que contiene el ADN del HTLV-1 en su genoma. Se ha demostrado que las personas con enfermedades asociadas a HTLV-1 suelen tener en promedio valores más altos de carga proviral que los portadores asintomáticos (Gotuzzo *et al.*, 2010).

#### 2.2.22 Coinfección VIH/HTLV

Dado que el HTLV-1 presenta tropismo por los linfocitos T CD4+, y el HTLV-2 infecta preferentemente a células T CD8+, las interacciones resultantes de la coinfección por el VIH-1 es probable que sean diferentes. Aunque no existe un cuerpo de evidencia que sugiera que la infección por HTLV-2 es un factor protector contra la progresión del SIDA en los pacientes coinfectados, la situación es muy diferente para la coinfección HTLV-1. Algunos informes apoyan la hipótesis de que la coinfección HTLV-1 acelera la progresión del SIDA, pero hay otros resultados que sugieren que no causa ningún efecto perjudicial sobre la enfermedad del VIH-1 (Brites *et al.*, 2009)

La infección crónica por el VIH se asocia con inmunodeficiencia, causada por la progresiva depleción de linfocitos CD4. La infección por HTLV-I también puede estar relacionada con un cierto grado de perturbación de la respuesta inmune entre los pacientes que albergan el virus, pero por lo general no presentan clínica. Mientras que hay evidencia que sugiere que la coinfección por virus VIH/HTLV puede modificar la clínica y el hallazgo de laboratorio durante el curso de la infección por el VIH (Brites *et al.*, 2011).

El impacto real del HTLV-1 en la coinfección VIH es todavía una cuestión sin resolver. Varios informes publicados en las dos últimas décadas proporcionan resultados contradictorios. Uno de los primeros informes sobre el potencial impacto de la coinfección en la progresión del SIDA se publicó en 1989, y sugirió que podría estar relacionado a un estado clínico adverso. Sin embargo, el pequeño tamaño de la muestra y el diseño transversal no lo hicieron permitir cualquier forma de asociación concluyente. En 1994, Schechter, *et al.* evaluaron a 27 pacientes coinfectados, en un estudio de casos y controles, se detectó que la coinfección fue asociada con recuentos de linfocitos CD4+ más altos, más enfermedad clínica avanzada y mayores niveles de beta 2-microglobulina que los pacientes infectados por solo VIH. Un exceso de 82% en el recuento de CD4+ fue

estimado para pacientes coinfectados, sin ningún beneficio inmunológico detectable (Brites *et al.*, 2009).

La preocupación por la evolución clínica, como resultado de la coinfección por HTLV-1 y el VIH ha adquirido una especial relevancia en los últimos años, frente a la creciente evidencia que muestran que: a) la coinfección es frecuente en varias regiones geográficas en el sur de África b) se ha demostrado que los pacientes coinfectados presentan linfocitos TCD4+ estables con independencia de su progresión a SIDA, que por cierto podría enmascarar la inmunosupresión con la consiguiente inadecuada decisión en cuanto al inicio de la terapia antirretroviral y la profilaxis a las infecciones oportunistas. La situación ha de ser agravada por el hecho de que ni cura ni tratamiento efectivo está todavía disponible para la infección por HTLV de tal manera que los médicos son incapaces de controlar los efectos ejercidos por el virus (Samo *et al.*, 2010).

### 2.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	VARIABLE	INDICADORES
Determinar el conteaje de linfocitos T CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> /CD3 <sup>+</sup> por citometría de flujo a pacientes coinfectados y a pacientes sin coinfección.	<p><b>Contaje de linfocitos T (Dependiente)</b></p> <p><b>Coinfección (independiente)</b>            Grupo I:(VIH+/HBsAg+, HBcAb+, HTLV-)            Grupo II:(VIH+/HBsAg-, HBcAb-, HTLV+)            Grupo III: (VIH+/HBsAg+, HBcAb+, HTLV+)</p> <p><b>Sin coinfección (independiente)</b>            Grupo IV: (VIH+/HBsAg-, HBcAb-, HTLV-)</p>	<p>cel/mm<sup>3</sup> CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup></p> <p>Infección por VHB: HBsAg+, HBcAb+,            Infección por HTLV1/2:            Presencia de anticuerpos.</p> <p>Sin infección para VHB:            HBsAg-, HBcAb-,            Sin Infección por HTLV1/2:            Ausencia de anticuerpos.</p>
Determinar carga viral VIH-1 a través del método bDNA System a pacientes coinfectados y a pacientes	<p><b>Carga viral VIH-1(Dependiente)</b></p> <p><b>Coinfección (independiente)</b>            Grupo I: (VIH+/HBsAg+, HBcAb+,</p>	<p>copias/mL</p> <p>Infección VHB: HBsAg+, HBcAb+,</p>



La investigación no experimental es la que se realiza sin manipular deliberadamente las variables. Lo que hacemos es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto natural, para después analizarlos. Los diseños de investigación transeccional o transversal recolectan datos en un solo momento, en un tiempo único. Su propósito es describir variables, y analizar su incidencia e interrelación en un momento dado (Hernández *et al.*, 2003)

### **3.2 Población y Muestra**

La población estuvo constituida por los pacientes que acudieron a la UPRIC y resultaron positivos a la prueba de VIH y confirmatorio en el periodo 2012-2013.

La muestra estuvo representada por todos aquellos pacientes VIH positivos coinfectados con VHB (definida por HBsAg+, HBcAc+) o coinfectados con HTLV (definida por anticuerpos HTLV1/2+) Por lo tanto se precisa un muestreo no probabilístico de tipo intencional.

Una muestra intencional escoge sus unidades no en forma fortuita sino completamente arbitraria, designando a cada unidad según características que para el investigador resulten de relevancia. Estas muestras son muy útiles y se emplean frecuentemente en los estudios de casos (Sabino, 1992).

El grupo control estuvo representado por los pacientes VIH positivos no coinfectados con VHB (HBsAg-, HBcAc-) y ausencia de anticuerpos contra el HTLV 1/2. Con base a lo descrito anteriormente, en este estudio la muestra estará dividida en cuatro grupos, encontrándose distribuidos de la siguiente manera:

Grupo I: (VIH+/HBsAg+, HBcAc+, HTLV-)

Grupo II: (VIH+/HBsAg-, HBcAc-, HTLV+)	COINFECTADOS
Grupo III: (VIH+/HBsAg+, HBcAc+, HTLV+)	
Grupo IV: (VIH+/HBsAg-, HBcAc-, HTLV-)	NO COINFECTADOS
	<b>(GRUPO CONTROL)</b>

**Criterios de inclusión de la muestra:** para el estudio fueron incluidos todos aquellos pacientes que resultaron positivos para la prueba de VIH y confirmatorio en el año 2012-2013 por lo cual se trabajó con pacientes en estado basal.

Para conocer el estado de coinfección en dichos pacientes se determinaran anticuerpos contra el HTLV 1/2, y dos marcadores para infección aguda de VHB (HBsAg y HBcAb).

### 3.3 Procedimiento

El paciente que decidió participar en el estudio, después de comprender y firmar el consentimiento informado (anexo 1):

- ✓ Se le extrajo una muestra de sangre de 10 mL la cual fue distribuida en dos porciones, donde 5ml se utilizaron para realizar las pruebas diagnósticas HTLV 1/2 y VHB (anexo 2) y el resto para realizar el conteo de linfocitos T CD4+/CD8+/CD3+ y carga viral VIH-1, indispensables para completar su diagnóstico. Las muestras obtenidas sin anticoagulante fueron centrifugadas a 3000 r.p.m. durante 10 min para luego separar el suero y poder almacenarlo a -20°C hasta el momento de su procesamiento.
- ✓ Se le indicó que regrese dos semanas después, para retirar sus resultados.

## **CONTAJE DE LINFOCITOS T CD3+/CD4+/CD8+**

Las muestras de sangre de los pacientes deben reunir los siguientes criterios:

- Recolectada en tubo VACUTAINER de EDTA
- Almacenada por no más de 24 horas a temperatura ambiente (20-25°C)

### Citómetro de flujo

El citómetro de flujo recurre a un rayo láser y un detector de luz para contar células intactas aisladas en suspensión. Cada vez que una célula pasa por el rayo laser, la luz del detector se desvía y esta interrupción de la señal láser se registra. El láser excita las células que tienen un anticuerpo marcado con fluorescencia unido a sus antígenos de superficie celular, de modo que emiten luz que un segundo sistema detector localizado en ángulo recto con el haz láser registra. La forma más sencilla del instrumento cuenta cada célula cuando pasa por el haz laser, y registra el grado de fluorescencia que la célula emite; una computadora conectada al sistema genera graficas del número de células como coordenadas y su intensidad de fluorescencia como abscisas (kindt *et al.*, 2007).

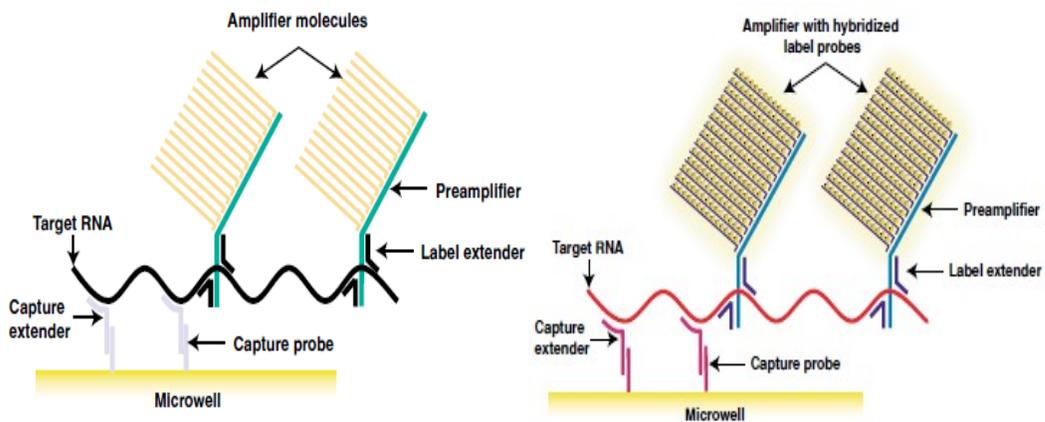
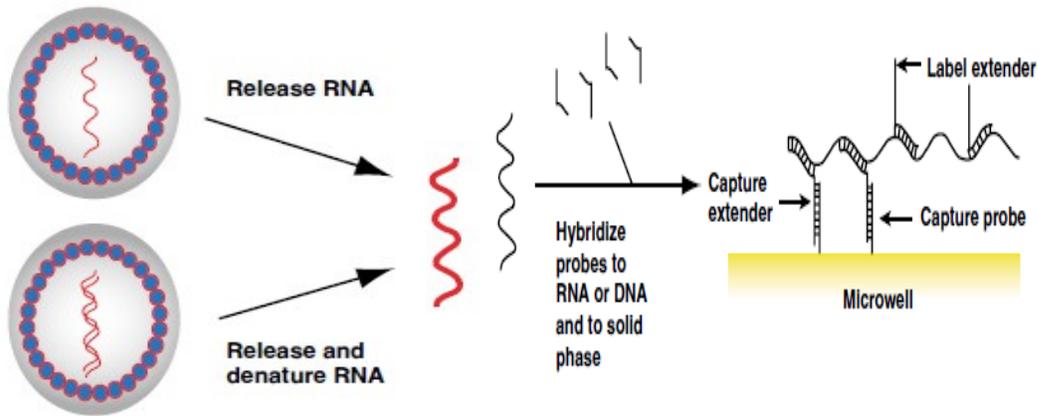
### Resultados del paciente:

- Los conteos absolutos de y CD8 son los conteos de linfocitos CD4+, CD8+, CD3+ respectivamente
- El conteo absoluto de CD3 se reporta como el promedio del valor total de CD3+ obtenido de los tubos CD4/CD3 y CD8/CD3
- CD4/CD8 es la relación de linfocitos CD4+CD3+ a linfocitos CD8+/CD3+

## **Tecnología del ADN ramificado**

En el más reciente de los ensayos de tercera generación de bDNA, los oligonucleótidos específicos (extensor de captura, extensores de etiqueta), se hibridan fuertemente al ácido nucleico diana. Los extensores de captura están diseñados para hibridar el objetivo y las sondas de captura están conectadas a los micropocillos de la placa (figura 9). Los extensores de etiqueta están diseñados para hibridar con regiones contiguas del objetivo y para proporcionar las secuencias de hibridación de un preamplificador de oligonucleótidos. La amplificación de la señal comienza a continuación con sondas de hibridación preamplificadoras para los extensores de etiqueta. El preamplificador forma un híbrido estable sólo si se hibrida con dos extensores de etiqueta adyacentes. Otras regiones en el preamplificador se diseñaron para hibridar con múltiples moléculas de amplificador bDNA que crea una estructura ramificada. Por último, los oligonucleótidos marcados con fosfatasa alcalina, que son complementarios a las secuencias de amplificador bDNA, se unen a la molécula bDNA por hibridación. (Tsongalis, 2006).

El ensayo VERSANT HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) es un procedimiento sándwich de hibridación de ácido nucleico para la cuantificación directa de ARN del VIH-1 en plasma humano. En primer lugar el VIH-1 se concentra a partir del plasma por centrifugación. Una vez que el ARN genómico del VIH-1 se libera de los viriones, se captura en un micropocillo mediante un conjunto de sondas de captura de oligonucleótidos sintéticos específicos. Un conjunto de sondas diana se hibridan al ARN viral y a las sondas del amplificador. Las sondas de captura, que constan de 17 extensores de captura individuales, y las sondas diana, que constan de 81 extensores diana individuales, se acoplan a distintas partes del gen pol del ARN viral. La sonda del amplificador se hibrida al preamplificador formando un complejo de ADN ramificado.



**Fig. 9** Tecnología del ADN ramificado (Tsongalis, 2006).

Varias copias de una sonda marcada con fosfatasa alcalina se hibridan a este complejo inmovilizado. La detección se alcanza incubando el complejo con un sustrato quimioluminiscente. La emisión de luz es directamente proporcional a la cantidad de ARN del VIH-1 presente en cada muestra y el analizador registra los resultados como unidades relativas de luz. Se define una curva patrón por la emisión de luz de estándares que contienen concentraciones conocidas del virus

VIH-1. Las concentraciones de ARN del VIH-1 en las muestras se determina a partir de esta curva estándar (Siemens, 2008).

#### Calibración del ensayo

Montar los seis estándares del kit en cada ensayo. La curva estándar se usa para determinar la carga viral de cada muestra

#### Control de calidad

Para supervisar el funcionamiento del ensayo, deben incluirse tres controles en cada ensayo. Tratar los controles de la misma forma que trataría las muestras.

#### Limites de cuantificación

El intervalo de cuantificación del ensayo es de 50 a 500.000 copias de ARN del VIH-1 por mililitro. Los resultados del ensayo se presentan de la siguiente forma:

- Los valores menores que el límite inferior de cuantificación se presentan como <50 copias de ARN del VIH-1 por mililitro.
- Los valores comprendidos entre los límites de cuantificación inferior y superior se presentan como cuantificaciones
- Los valores mayores que el límite superior de cuantificación se presentan como >500.000 copias de ARN del VIH-1 por mililitro.

### 3.4 Procesamiento de los datos

Elaboración de tablas de contingencia según el grupo de pacientes coinfectados VIH/VHB, VIH/HTLV y pacientes sin coinfección.

### 3.5 Análisis de Datos:

Sobre las variables consideradas en el presente trabajo se calcularon los estadísticos descriptivos media aritmética ( $\bar{x}$ ), desviación estándar (S), error

estándar de la media (EE), coeficiente de variación (%CV), valores mínimo (Min) y máximo (Máx), y se construyeron los intervalos al 95% de confianza para las medias poblacionales  $\mu$ .

Para verificar si hay diferencias significativas entre las medias poblacionales de los grupos considerados en este trabajo se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y su correspondiente prueba de comparaciones múltiples. Se calcularon los coeficientes de correlación no paramétrico de Spearman a fin de verificar si hay asociación entre las variables consideradas, especialmente con el conteo de linfocitos CD4 y la carga viral. Se trabajó al nivel de significación de 5%, por lo cual una diferencia o asociación se decretó significativa siempre que  $p \leq 0,05$ .

Los datos se procesaron utilizando los programas estadísticos Statistix 9.0 y Minitab 16.0, ambos bajo ambiente Windows.

## **CAPITULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las infecciones por el VIH y por el VHB siguen siendo uno de los principales problemas de salud pública a escala mundial. Se estima que un 6-10%

de los sujetos con infección por VIH tienen infección crónica por el VHB. En los últimos años, la coinfección por el VHB ha generado una causa importante de morbilidad y mortalidad entre los pacientes VIH positivos. En toda Europa, aproximadamente el 9% de los pacientes VIH positivos están coinfectados con el VHB (Toro *et al.*, 2006 y Geretti *et al.*, 2010).

En relación al componente demográfico encontrado en el presente estudio se evaluaron un total de 364 pacientes recién diagnosticados a la prueba VIH y confirmatorio que acudieron a la UPRIC en el período agosto 2012 - agosto 2013 con edades comprendidas entre los 16 a 68 años. Según la distribución por grupo etario y sexo de los pacientes incluidos en el estudio, la tabla 6 refleja que el grupo con mayor cantidad de personas infectadas fueron adultos jóvenes=132 (36,3%) con edades comprendidas entre 26 a 35 años, seguido de n=130 (35,7%) personas con edades comprendidas entre 16 a 25 años. Ambos grupos representan la mayoría de la muestra estudiada con el 72% de pacientes, siendo el sexo masculino el más frecuente (83,8%).

Tabla 6. Distribución de la edad según el sexo de pacientes que acudieron a la UPRIC

		SEXO		TOTAL
		FEMENINO	MASCULINO	
EDAD	≤25	15	115	130 (35,7%)
	26-35	24	108	132 (36,3%)
	36-45	11	46	57 (15,7%)
	46-55	5	25	30 (8,2%)

	56-65	4	10	14 (3,8%)
	≥65	0	1	1 (0,3%)
<b>TOTAL</b>		56 (16,2%)	305 (83,8%)	364 (100%)

En Venezuela se estima que la epidemia es de tipo concentrada, con una prevalencia en la población general menor del 1% y superior al 5% en grupos de población más vulnerable, especialmente en hombres que tienen sexo con hombres (HSH). Si bien los conocimientos sobre formas de prevención y transmisión del VIH son considerables en más de dos tercios de la población de HSH, dicho conocimiento pareciera no traducirse en comportamientos adecuados. Menos de la mitad (42,3%) de los HSH utiliza condón, principalmente aquellos que están entre las edades de 18 y 25 años (República Bolivariana de Venezuela, 2012). Esto podría de alguna manera explicar el mayor número de casos de VIH en los hombres. Sin embargo, se puede plantear que en algunos estudios se ha notado que las mujeres se están equiparando con respecto a los hombres a nivel mundial (Sandoval *et al.*, 2009). En la información proveniente de la notificación regular que realizan las Coordinaciones Regionales del Programa Nacional de SIDA/ITS en Venezuela es evidente el incremento de casos de VIH en pacientes femeninas durante los últimos años, donde en el 2008 se registraron 1.833 casos, en el 2009 2.487 casos y para el 2011 fueron registrados 2.513 casos (República Bolivariana de Venezuela, 2012).

Así mismo es importante resaltar el alto porcentaje de pacientes jóvenes infectados con VIH donde la edad media se ubicó en 31,72 y el 76% de los casos es representado por el grupo de pacientes con edades entre 16 y 35 años. Al comparar estos resultados con los de Tovar *et al.* (2008), donde la edad promedio se ubicó en los 37,25 años y el grupo de 28 a 37 años fue el que presentó el mayor número de casos (39,7%) se podría decir las personas se están infectando en edades tempranas, por lo que se deben guiar estrategias de orientación sexual

adecuada a este grupo de pacientes que representa la población joven y reproductiva del país. Alrededor del mundo se estima que la mitad de los contagios ocurren antes de los 25 años, en el caso del VIH se debe tomar en cuenta el período de incubación del virus, por lo que diversos estudios, cifran que las personas VIH acuden a servicios especializados para su atención después de internalizar que deben vivir con el VIH.

Un reciente estudio sobre la influencia del VIH en la hepatitis B crónica realizado en 132 homosexuales coinfectados sugiere que VIH se asocia a una mayor replicación del VHB y a un mayor riesgo de fibrosis, pero no de inflamación, apuntando la hipótesis de que, a pesar de la inmunodeficiencia por VIH, la progresión de la fibrosis puede ocurrir en presencia de una actividad inflamatoria mínima. Los valores de ALT son significativamente más bajos en los pacientes VIH positivos que en los VIH negativos. Estas observaciones son consistentes con la patogénesis inmunológica del VHB en sujetos VIH positivos, donde la inmunodepresión asociada al VIH lleva a una menor inflamación hepática. El riesgo de desarrollar cirrosis fue 4 veces más elevado y el grado de fibrosis más intenso en un estudio que comparó biopsias hepáticas de pacientes coinfectados con aquellas de sujetos VIH negativos. Esto sugiere que el proceso de fibrogenesis está facilitado en los pacientes VIH positivos, aun con una actividad inflamatoria menor y por ello se observan mayores grados de fibrosis hepática (González-García *et al.*, 2002).

La presencia de infección activa por VHB se observó en un 2,7% (10/364 muestras) de los pacientes infectados por VIH recién diagnosticados (estado basal), lo cual se evidenció por la detección del HBsAg y HBcAc en la muestra estudiada. Se obtuvo evidencia de infección pasada por el VHB en el 16,8% (61/364) de las muestras analizadas definida por la presencia del HBcAc y ausencia del HBsAg. El 80,5% (293/364) de los pacientes no presentaron

confección VIH/VHB resultando ambos marcadores negativos como lo refleja la tabla 7.

**TABLA 7.** Frecuencia de confección VIH/VHB

		Hbcore		Total
		Positivo	Negativo	
HbsAg	Positivo	10 (2,7%)	0 (0,0%)	10 (2,7%)
	Negativo	61 (16,8%)	293 (80,5%)	354 (97,3%)
Total		71 19,5%	293 80,5%	364 100,0%

De igual forma esta baja prevalencia fue observada por Silva *et al.* (2006), en pacientes con VIH/SIDA atendidos en el único centro de referencia en el Estado de Amazonas entre 1998-2003, donde 45 (6,4%) pacientes resultaron positivo al HBsAg y 282 (40,2%) dieron positivo para el HBcAc como evidencia infección pasada por VHB. En países de Latinoamérica como Argentina se han encontrado prevalencias muy diversas. Entre septiembre 2004 y febrero 2005 la seroprevalencia de marcadores de HBV se ubicó en el 41,5%, mientras que la presencia de HBcAc como único marcador fue encontrado en el 29,3% y el 9% de los pacientes coinfectados presentó portación crónica de HBsAg (Lauferet *al.*, 2007). Por otro lado en el sur de la India Saravanan *et al.* (2007), detectaron la coinfección VIH/VHB en 45/500 (9%) pacientes.

La respuesta inmune al VHB no es óptima en el contexto del VIH, llevando a una disminución de la frecuencia en la seroconversión del HBsAg. Los mecanismos subyacentes a la respuesta inmune adaptativa al VHB en pacientes HIV coinfectados también pueden ser útiles en la comprensión y control de la progresión de la enfermedad VIH/VHB. La activación de las células T CD8+ VHB específicas, juegan un papel clave tanto en el control de la replicación del VHB y

en la patogénesis de la enfermedad del hígado, donde es claramente afectado en infección concomitante por VIH. Esto podría explicar por qué la infección aguda por VHB tiende con frecuencia a evolucionar hacia la cronicidad en pacientes coinfectados por el VIH (Lacombe *et al.*, 2010).

Las células T específicas del VHB desempeñan un papel clave tanto en el control de la replicación del VHB y en la patogénesis de la enfermedad hepática. Chang *et al.* (2004), examinaron las respuestas de células T-VHB específicas en pacientes coinfectados con VIH/HBeAg-positivo y VIH/HBeAg-negativo con tratamiento al VHB. No hubo diferencias significativas en la magnitud global de las respuestas de células T-VHB específico, pero la calidad de la respuesta fue significativamente afectada en pacientes coinfectados VIH-1/VHB en comparación con los pacientes mono infectados. En los pacientes coinfectados, las células T-VHB específico rara vez producen más de una citoquina y responden a un menor número de proteínas del VHB que en los pacientes mono infectados. En general, la frecuencia y la calidad de las respuestas de células T-VHB específico aumentaron con un recuento de células TCD4+ superior.

Al realizar el conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> y carga viral de VIH-1 a pacientes coinfectados y a pacientes sin coinfección se observó que para la mayoría de las variables el comportamiento es bastante homogéneo, lo cual se refleja en los valores de las medias muestrales de cada grupo. La tabla 8 muestra los estadísticos descriptivos para los grupos de pacientes considerados en el estudio.

Dado que las variables presentaron distribuciones muy alejadas de la normalidad, se prefirió la aplicación de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la misma indicó que no hay diferencias significativas entre los grupos considerados, el marcador CD4 (KW=0,67;  $p=0,7163$ ), CD8 (KW=0,22;  $p=0,8957$ ), CD3 (KW=0,34;  $p=0,8446$ ), CD4/CD8 (KW=0,38;  $p=0,8272$ ) y Carga

Viral(KW=1,67;  $p=0,4341$ ), estos resultados se explican fácilmente al observar no solo los valores promedios cercanos entre sí, sino además por la fuerte heterogeneidad o elevada varianza de las variables estudiadas, lo cual se refleja en los elevados coeficientes de variación obtenidos, todos superiores a 30%.

**Tabla 8.** Estadísticos descriptivos clasificados por grupo.

	<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>S</b>	<b>EE</b>	<b>%CV</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>IC<sub>95%</sub>(<math>\mu</math>)</b>	
<b>CD4</b>	<b>Coinfectado VIH/VHB</b>	10	385,1	319,45	101,02	82,954	4	961	156,58 - 613,62

	<b>HBcore</b>	61	387,02	286,33	36,661	73,984	7	1235	313,68 - 460,35
	<b>Sin confección</b>	293	412,18	283,53	16,564	68,786	3	1501	379,58 - 444,78
	<b>Coinfectado VIH/VHB</b>	10	1142,60	432,38	136,73	37,842	644	2100	833,3 - 1451,9
<b>CD8</b>	<b>HBcore</b>	61	1233,70	597,21	76,464	48,409	149	2100	1080,7 - 1386,6
	<b>Sin confección</b>	293	1222,30	519,94	30,375	42,539	111	2610	1162,5 - 1282,1
	<b>Coinfectado VIH/VHB</b>	10	1643	661,14	209,07	40,24	808	3039	1170,1 - 2115,9
<b>CD3</b>	<b>HBcore</b>	61	1821,7	948,41	121,43	52,062	288	3500	1578,8 - 2064,6
	<b>Sin confección</b>	293	1837,6	1162,2	67,898	63,248	125	16663	1703,9 - 1971,2
	<b>Coinfectado VIH/VHB</b>	10	0,349	0,3386	0,1071	97,013	0	1,17	0,1068 - 0,5912
<b>CD4/CD8</b>	<b>HBcore</b>	61	0,3657	0,3852	0,0493	105,32	0,01	2,81	0,2671 - 0,4644
	<b>Sin confección</b>	293	0,3742	0,3161	0,0185	84,463	0,01	2,5	0,3379 - 0,4105
	<b>Coinfectado VIH/VHB</b>	10	21370	23395	7398,2	109,48	569	75255	4633,7 - 38105
<b>CV</b>	<b>HBcore</b>	61	77552	119380	15285	153,94	391	500000	46977 - 108126
	<b>Sin confección</b>	293	61403	101307	5918,4	164,99	62	500000	49755 - 73051

La figura 10 y 11 muestra el caso particular del conteo de linfocitos T CD4+ y la carga viral, en donde las líneas del error estándar dan una idea de lo heterogéneo de los valores en esta distribución y se puede observar como el conteo de linfocitos T CD4+ es muy similar en los distintos grupos, caso contrario a la carga viral donde resultó ser menor en los pacientes coinfectados.

**Fig. 10** Contaje de linfocitos TCD4+ promedio clasificada por grupo.

**Fig. 11** Carga viral promedio clasificada por grupo.

Similar a esta investigación se encuentra Gutiérrez *et al.* (2012), donde la presencia de infección activa por VHB se presentó en un 15% (280/1.846 muestras) de los pacientes infectados por VIH. En dicho estudio no se observó asociación entre la presencia de marcadores serológicos específicos de hepatitis B ó C y bajos ó elevados valores de carga viral del VIH-1 y de la relación entre linfocitos T CD4+/CD8+, sugiriendo que la coinfección por VHB ó VHC no se asocia a los estatus virológico e inmunológico de pacientes infectados por VIH en comparación con aquellos individuos seropositivos de la población evaluada que presentaron serología negativa para estas hepatitis virales.

Del mismo modo Law *et al.* (2004), evaluaron el impacto de la coinfección de la hepatitis viral en la enfermedad por HIV. Curiosamente, la mediana de las reducciones de ARN del VIH (log<sub>10</sub> copias/ml) fue de aproximadamente 1,5 para los pacientes mono infectados como para los coinfectados VIH/VHB desde la semana 4 hasta la semana 48. La mediana de recuperación de recuento de células TCD4+ fue significativamente menor entre los pacientes coinfectados VIH/VHB en la semana 4 (VIH, 62 células/ml; VIH/VHB, 29 células/ml), sin embargo, en la semana 48 el recuento de las células TCD4+ fueron similares (VIH, 115 células/ml; VIH/VHB, 113 células/ml). Los autores indican que la recuperación retardada del recuento de células TCD4+ entre los pacientes coinfectados VIH/VHB no se mantuvo, y no fue asociado con una mayor progresión de la enfermedad por VIH.

Por otro lado Pseudos *et al.* (2010), con un 6,84% de pacientes coinfectados por VHB demostraron que el aumento del recuento de células TCD4+

se asocia significativamente con la pérdida del HBsAg. Estudios anteriores informan que un mayor número de células TCD4+ inicial se asocia con la seroconversión del HBeAg en los pacientes coinfectados que reciben tratamiento con lamivudina. La respuesta de las células T CD4+ se cree que desempeñan un papel crítico en mantener el funcionamiento de forma activa de los linfocitos T citotóxicos que ayudan en la liberación de citoquinas antivirales.

Llama la atención el hallazgo encontrado de los niveles de carga viral en el grupo de pacientes coinfectados, la cual resultó ser baja en comparación al resto de los pacientes sin coinfección. Según la literatura revisada el impacto que la infección por HBV tiene sobre la evolución natural de la infección por VIH es aún controversial. Algunos estudios han demostrado una mayor tasa de progresión al SIDA entre individuos con marcadores serológicos de exposición al VHB, mientras que otros no han podido evidenciar alteraciones en la progresión a enfermedad por VIH (Laufer *et al.*, 2007).

El VIH presenta tropismo por las células hepáticas y las células hepáticas estrelladas. Cada vez hay más evidencia de un efecto citopático directo del VIH en el tejido hepático. Los caminos de la acción patógena del VIH son numerosos y aún no están completamente dilucidados. Una de estas vías está relacionada con CCR5 y CXCR4, los dos correceptores principales necesarios para la entrada del VIH en las células huésped. Ellos se encuentran expresados en la superficie de los hepatocitos y en las células hepáticas estrelladas, que participan en la fibrogénesis. Datos recientes sugieren que el VIH y/o la glicoproteína gp120 del VIH ligado al receptor CXCR4 presentes en los hepatocitos regulan el ligando inductor de apoptosis relacionado al factor de necrosis tumoral. Según los autores, la infección por VIH hace a los hepatocitos más susceptibles al daño hepático durante estados de enfermedad (tales como la infección por VHB) asociado con una mayor producción del ligando inductor de apoptosis relacionado al factor de necrosis tumoral. Los datos experimentales recientes han sugerido la capacidad

del VIH para infectar células hepáticas estrelladas y promover su diferenciación miofibroblástica que conduce a la producción de actina de músculo liso y colágeno (Lacombe 2010).

Debido al bajo porcentaje de pacientes coinfectados VIH/VHB obtenido es necesario realizar un estudio a mayor escala que permita determinar si hay un papel protector en cuanto a la coinfección del VHB con respecto a la replicación de VIH, como se pudo observar en los valores de carga viral disminuidos en el grupo de pacientes coinfectados con respecto al grupo control en el presente estudio y de esta manera evaluar ampliamente el efecto ejercido entre ambos virus. De igual forma es importante resaltar que en la mayoría de los estudios revisados los pacientes se encontraban recibiendo tratamiento antiretroviral.

Las interacciones recíprocas entre HIV y HBV resultan en problemas específicos para el manejo de la coinfección HBV/HIV. Por ejemplo, se observa una menor respuesta al interferón y una selección más rápida de cepas resistentes a lamivudina. Aún más, el riesgo de seleccionar mutantes de HIV y/o de HBV se contrapone a realizar monoterapia con un nucleósido/nucleótido en estos pacientes, por lo que el tratamiento de ambas infecciones debe ser coordinado cuidadosamente. Las guías actuales de tratamiento recomiendan no tratar los pacientes que se encuentren en la fase de inmunotolerancia, ya que la probabilidad de seroconversión del antígeno e no difiere de la alcanzada sin tratamiento alguno; ni tampoco para los portadores inactivos, en quienes el tratamiento no aportará beneficios. La terapéutica antiviral debe tener como objetivo primordial lograr la cura de la infección con la desaparición del antígeno de superficie y la aparición de anticuerpos contra el antígeno de superficie. Sin embargo, es difícil alcanzar este objetivo ya que, la mayor parte del material genético de HBV se encuentra en el hígado en forma de ADN covalentemente cerrado, constituyendo una forma de “escape” a la acción de la mayoría de los antivirales en uso. Se plantea entonces como objetivo menos ambicioso detener la

progresión de enfermedad hepática a cirrosis hepática, previniendo la evolución de ésta y el desarrollo de carcinoma hepatocelular. Para ello se persigue lograr una máxima y sostenida supresión viral. De esta manera, se considera como respuesta al tratamiento a la desaparición del ADN de HBV y, en los individuos con antígeno e positivo la desaparición del mismo y la seroconversión a anti-HBe (Laufer *et al.*, 2007).

Las correlaciones no paramétricas de rango de Spearman de las variables consideradas (tabla 9) con respecto al conteo de linfocitos TCD4+ presentaron la misma tendencia tanto en forma general como para cada uno de los grupos, las mismas fueron significativas para los grupos de pacientes con HBcAc de memoria y en pacientes sin coinfección, para el grupo de pacientes coinfectados solo hubo asociación significativa en el conteo de linfocitos TCD3+, posiblemente por el tamaño de la muestra, sin embargo, es importante resaltar que todas presentaron asociación negativa con la carga viral, es decir, a mayor carga viral detectada, menor conteo de linfocitos T CD4.

Tabla 9. Correlaciones de Spearman de las variables consideradas y el conteo de linfocitos CD4.

Grupo	CD8		CD3		CD4/CD8		CV	
	R	p	R	P	R	P	R	P
<b>Coinfectado</b>	0,2364	0,4916	0,7697	0,0117	0,9119	0,0005	-0,5636	0,0958
<b>Hbcore</b>	0,4365	0,0005	0,6542	<0,0001	0,7928	<0,0001	-0,6635	<0,0001
<b>SinCoinfección</b>	0,3293	<0,0001	0,6106	<0,0001	0,8425	<0,0001	-0,5271	<0,0001
<b>Total</b>	0,3503	<0,0001	0,6231	<0,0001	0,8360	<0,0001	-0,5496	<0,0001

Es importante mencionar que el grupo de pacientes evaluados en la investigación eran de diagnóstico reciente, lo que representa un estado basal de la infección (sin haber recibido ningún tratamiento antirretroviral). Los 364 pacientes fueron clasificados según la distribución del recuento de linfocitos T e inmunofenotipificación, de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica

del CDC (Tabla 10), el conteo de linfocitos T CD4+ reveló que 105 pacientes (28,9%) recién diagnosticados con VIH registraron recuentos de linfocitos TCD4+ por debajo de 200 cels/mm<sup>3</sup>, valor considerado definitorio de SIDA. 139 individuos (38,2%) exhibieron recuentos entre 200 a 499 cels/mm<sup>3</sup> conformando el grupo de pacientes con VIH en evolución hacia el SIDA, y 120 (33%) pacientes registraron valores por encima de 500 cels/mm<sup>3</sup>.

Tabla 10. Distribución de los recuentos de linfocitos T e inmunofenotipificación, de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC

	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje acumulado</b>
<200	105	28,8	28,8
200-499	139	38,2	67,0
≥500	120	33,0	100,0
Total	364	100,0	

Al observar la distribución de los recuentos de linfocitos T CD4+ de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC con respecto a la edad (tabla 11), se evidencia que de 105 (28,8%) personas presentaron recuentos <200 cel/mm<sup>3</sup> de los cuales el 11,3% representan el grupo de 26 a 35 años de edad y de las 139 (38,2%) personas que presentaron recuentos entre 200 y 499 cel/mm<sup>3</sup> el 14,8% representan el grupo de menores a 25 años conformando el conjunto de pacientes con VIH en evolución hacia el SIDA.

Es importante mencionar que 4 pacientes con edades comprendidas entre los 24 y 28 años presentaron recuentos de linfocitos T CD4+ de hasta 5 cels/mm<sup>3</sup>. Esto puede sugerir tres cosas: 1) Infección a temprana edad 2) Agresividad del VIH 3) Pueden ser individuos considerados progresores rápidos con el consecuente deterioro de sistema inmunológico. El conteo de linfocitos TCD4+ menor a 200 células/mm<sup>3</sup> y/o historia o presencia de una enfermedad definitoria de

SIDA es considerada dentro de las condiciones que indican el inicio de la terapia antirretroviral lo más pronto posible.

Tabla 11. Distribución de los recuentos de linfocitos T CD4+ por grupo etareo de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC.

		Linfocitos T CD4+			Total
		<200	200-499	≥500	
EDA D	≤ 25	17(4,7%)	54 (14,8%)	59 (16,2%)	130 (35,7%)
	26 - 35	41 (11,3%)	52 (14,3%)	39 (10,7%)	132 (36,3%)
	36 - 45	28 (7,7%)	17 (4,7%)	12 (3,3%)	57 (15,7%)
	46 - 55	13 (3,6%)	9 (2,5%)	8 (2,2%)	30 (8,2%)
	56 - 65	6 (1,6%)	6 (1,6%)	2 (0,5%)	14 (3,8%)
	≥ 66	0 (0,0%)	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1 (0,3%)
<b>Total</b>		105 (28,8%)	139 (38,2%)	120 (33,0%)	364 (100,0%)

Generalmente el tiempo entre la infección por el VIH y el desarrollo de SIDA es de diez años en promedio, pero un pequeño porcentaje de personas infectadas, llamadas no progresores a largo tiempo, no desarrollan SIDA aún después de diez años de infección. Los pacientes no progresores a largo tiempo, se caracterizan por ser asintomáticos, con infección por VIH por al menos ocho años, niveles bajos de ARN viral, estabilidad en el conteo de linfocitos T CD4+ (mayor a 500 células/mm<sup>3</sup>) y sin tratamiento antirretroviral. Igualmente, se ha descrito una respuesta humoral contra el virus aumentada y una respuesta celular citotóxica mediada por la actividad antiviral exacerbada de los linfocitos T citotóxicos CD8+ (Ameli y Gutiérrez, 2007).

Para Admou *et al.* (2010), de 235 pacientes analizados, el 60,4% tenían un recuento linfocitos T CD4+ menor a 200 células/ mm<sup>3</sup>, el 26% tenían un recuento linfocitos T CD4+ entre 200 y 499 células/ mm<sup>3</sup> y sólo el 13,6% mostró un número de linfocitos T CD4+ menor o igual a 500 células/ mm<sup>3</sup>. Esto es el reflejo de un

retraso significativo en el diagnóstico de pacientes infectados por el VIH posiblemente debido a la falta de empleo de la prueba de VIH como rutina en la población sexualmente activa. Por lo tanto, este retraso puede poner en peligro la gestión oportuna de las personas infectadas por el VIH y aumenta la propagación de la epidemia en el país.

Dentro de las potenciales ventajas del inicio temprano de la terapia antirretroviral tenemos que disminuye el desgaste del sistema inmune y la evolución del VIH, evita la presentación de infecciones oportunistas y neoplasias asociadas al sida alargando la expectativa de supervivencia en cada paciente.

El diagnóstico e inicio tardío del tratamiento antirretroviral están fuertemente asociados con la salud negativa de los individuos infectados, incluyendo los aumentos de linfocitos TCD4+ subóptimos con tratamiento, la alta tasa de infecciones oportunistas, y el aumento de riesgo de mortalidad. Es por ello que la identificación temprana del VIH y el seguimiento puntual son fundamentales para mejorar el estado del paciente y la reducción de la transmisión del virus (Tang *et al.*, 2014).

Govender *et al.* (2014), indicaron que la mayoría de los adultos asintomáticos en estado basal tuvieron un recuento bajo de linfocitos TCD4+ (mediana de 364 células/mm<sup>3</sup>) y elevada carga viral (de 13.000 copias/ml). De hecho, casi la mitad de todos los pacientes portadores de VIH se clasificaron para el inicio inmediato de tratamiento antirretroviral de acuerdo con las directrices actuales de África del Sur. De igual forma para DybuL *et al.* (2002), el 36% de los individuos tenían recuentos de linfocitos TCD4+ menor a 200 células/mm<sup>3</sup> en el momento del diagnóstico de infección por VIH. Así, según las guías de tratamiento actuales, la mayoría de estos individuos deberían haber iniciado la terapia antirretroviral en o cerca del momento del diagnóstico. ONUSIDA 2015, con el fin de reducir las nuevas infecciones por VIH, mejorar la calidad de vida de las

personas infectadas y disminuir la mortalidad por SIDA, países de América Latina, el Caribe y sus socios establecieron nuevas metas denominadas “90-90-90” a alcanzar en 2020 a saber: 1) aumentar al 90 por ciento la proporción de personas con VIH que conoce su diagnóstico, 2) aumentar al 90 por ciento la proporción de personas bajo tratamiento antirretroviral y 3) aumentar al 90 por ciento la proporción de personas bajo tratamiento con carga viral indetectable.

Con respecto a la carga viral la media de las determinaciones fue de 63.009,40 copias/ml con un log de 4,2679. El 31,87% (n=116/364) presentaron valores de carga viral <10.000 copias/ml, el 49,18% (n=179/364) valores entre 10.000 y 100.000 copias/ml y el 18,95% (n=69/363) valores entre 100.000 y  $\geq$ 500.000. Un total de 11 (3%) pacientes presentaron un valor superior a 500.000 copias/ml, de los cuales 7 pacientes tenían recuentos de linfocitos T CD4+ menor a 200 cels/mm<sup>3</sup> (tabla 12).

Tabla 12. Carga viral con valores >500.000 y contaje de linfocitos T e inmunofenotipificación, de acuerdo con la clasificación por categoría inmunológica del CDC

		<b>CARGA VIRAL 500.000 copias/ml</b>
CD4 cel/mm <sup>3</sup>	MENOR A 200	7
	ENTRE 200-499	3
	MAYOR IGUAL A 500	1
Total		11

Abrahantes *et al.* (2010), indican como factor importante en la progresión de la enfermedad la carga viral. De manera general, existe un consenso de que niveles plasmáticos mayores que 100.000 copias/mL de VIH en los 6 meses después de la seroconversión y un nivel persistentemente más alto que 10.000 copias/mL durante los 2 primeros años después de la seroconversión, son fuertes

indicios de progresión rápida a SIDA. Niveles bajos de carga viral de VIH (<10.000 copias/mL) han sido asociados a valores estables de linfocitos TCD4+ y a un riesgo menor de desarrollo de SIDA.

Por otro lado se estima que HTLV-1 infecta de 15 a 20 millones de personas en todo el mundo. La prevalencia de anticuerpos varía de 0,2 a 10% entre los adultos, dependiendo del área geográfica. En algunos lugares aumenta con la edad alcanzando eventualmente de 20 a 50% de la población femenina y por encima de los 60 años (Journó y Mahieux, 2011). Las altas tasas de prevalencia en la población general se observan en el sur de Japón (10%), en Jamaica y Trinidad y Tobago (6%), Guinea-Bissau, Camerún y Benin (5%). En América del Sur (Argentina, Brasil, Colombia y Perú) se observó una prevalencia del 2% de seropositividad entre donantes de sangre (Ferreira *et al.*, 2010). La prevalencia media encontrada en donantes de sangre en Chile fue de 0,73% y Argentina 0,07%. En Brasil, Colombia y Perú, la prevalencia varía considerablemente de acuerdo a la zona y se han correlacionado con la latitud y la altitud en algunos países (Goncalves *et al.*, 2010).

Según datos analizados en un estudio interno donde se evaluó la frecuencia del HTLV1/2 en pacientes que asisten a la Unidad Programática Regional de Inmunología Clínica del Estado Aragua 2012, se obtuvo una frecuencia de HTLV 1/2 del 0,58%, donde el 0,38% fue para HTLV-1 de (2/514) y 0,19% para HTLV-2 de (1/514) (Márquez *et al.*, 2016). Similar a este estudio tenemos el realizado por León *et al.* (2003), donde se detectó una prevalencia del 0,11% al virus HTLV-1/2 en donantes de sangre de Caracas, lo cual nos habla de la baja prevalencia que hay en Venezuela según los estudios realizados.

Con respecto a la coinfección VIH-HTLV1/2; no se encontró y/o detectó ningún paciente. Sin embargo, estudios realizados a posterior en la misma línea

de investigación se detectaron 4 casos confirmados a través del western blot de personas coinfectadas con VIH-HTLV1/2 (Datos no publicados). El efecto de la coinfección VIH-HTLV1/2 ha sido estudiado encontrándose que el HTLV-1 es un fuerte activador del sistema inmunológico. La activación inmune y la respuesta inmunitaria exagerada ha sido demostrado ser el principal mecanismo patogénico involucrado en los síndromes inflamatorios asociados al HTLV-1. La inmunoproteína Tax modula un gran número de genes que juegan un papel clave en varias vías que conducen a la activación de células. Samo *et al.* (2009), manifestaron que los individuos coinfectados VIH/HTLV-1 (n=29) exhibieron un recuento superior de células T CD4+ (mediana: 525 células / mm<sup>3</sup>, frente a 274 células/mm<sup>3</sup>) y una mayor proporción en la relación CD4+/CD8+ (0,5 frente a 0,30) en comparación con el grupo de pacientes mono infectados.

La mayoría de las consecuencias de la infección VIH-1 están vinculados a su tropismo por las células CD4 +, que tiene una esencial papel en las defensas y regulación inmune. El HTLV-1 infecta preferiblemente las mismas células, pero tiene un comportamiento biológico distinto, la interacción de estos agentes tiene el potencial de causar cambios en la historia natural de las infecciones. La disposición de pruebas de laboratorio corrobora esta afirmación. Sin embargo, los estudios clínicos publicados sobre el impacto de HTLV-1 en la evolución del SIDA son contradictorios. Los principales problemas con estos estudios son las limitaciones metodológicas presentadas por la mayoría de ellos. Hay una clara necesidad de diseñar estudios más grandes con el fin de arrojar luz sobre estas polémicas preguntas. En cuanto a la coinfección por HTLV-2, los datos disponibles sugieren que no hay impacto detectable en la progresión del SIDA, y es probable que tengan un efecto protector sobre evolución de la enfermedad (Brites *et al.*, 2009).

## Conclusiones

1. Durante el período de estudio la edad media se ubicó en 31,72 donde el 36,3% tenían edades comprendidas entre 26-35 años y el 35,7% entre 16-25 años, por lo que el 72% (n=272) de la muestra analizada corresponde a los grupos en edad reproductiva.
2. En el presente estudio el mayor porcentaje de individuos infectados son de sexo masculino 83,8 % (n= 305/364).
3. La presencia de infección activa por VHB se observó en un 2,7% (10/364 muestras, se obtuvo evidencia de infección pasada por el VHB en el 16,8% (61/364) de las muestras analizadas y el 80,5% (293/364) de los pacientes no presentaron coinfección VIH/VHB.
4. En el presente estudio el contaje de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3 en pacientes coinfectados VIH/VHB y en pacientes sin coinfección se observó que el comportamiento es bastante homogéneo, por lo que no se obtuvo ninguna asociación estadísticamente significativa.
5. Los niveles de carga viral VIH-1 en el grupo de pacientes coinfectados VIH/VHB resultó ser bajo en comparación al grupo de pacientes sin coinfección
6. El contaje de linfocitos TCD4<sup>+</sup> reveló que 105 pacientes (28,9%) registraron recuentos por debajo de 200 cels/mm<sup>3</sup>, valor considerado definitorio de SIDA y 139 individuos (38,2%) exhibieron recuentos entre 200 a 499 cels/mm<sup>3</sup> conformando el grupo de pacientes con VIH en evolución hacia el

SIDA. Ambos grupos representan el 67,1% de pacientes que según consideraciones clínicas necesitarían tratamiento antirretroviral.

7. Con respecto a la carga viral el 49,18% (n=179/364) presentaron valores entre 10.000 y 100.000 copias/ml. Un total de 11 (3%) pacientes presentaron un valor superior a 500.000 copias/ml, de los cuales 7 pacientes tenían recuentos de linfocitos T CD4+ menor a 200 cels/mm<sup>3</sup>.
8. Durante el período de estudio la coinfección VIH-HTLV1/2; no se encontró y/o detectó en ningún paciente.

## Recomendaciones

1. Realizar estudios a mayor escala que permitan determinar si hay un papel protector en cuanto a la coinfección del VHB con respecto a la replicación de VIH y de esta manera evaluar ampliamente el efecto ejercido entre ambos virus.
2. Es fundamental el tamizaje de HTLV en la población ya que la mayoría de las personas infectadas permanecen asintomáticas y los pacientes que muestran signos o síntomas han estado expuestos a la infección por largos períodos de tiempo antes de que se manifiesten. Un número de diferentes factores están involucrados en la interacción virus/huésped y en la transición desde el estado asintomático hasta la aparición de una enfermedad asociada con el HTLV-1. Allí radica la importancia de poder contar con herramientas para el diagnóstico dentro de las redes de atención primaria en salud lo cual permitirá un manejo oportuno y adecuado de los pacientes, además, la coinfección VIH/HTLV-1 se asocia con un aumento del recuento de linfocitos T CD4<sup>+</sup>, lo que complica la decisión de cuándo comenzar el tratamiento antirretroviral en los pacientes infectados por VIH.
3. Es necesario hacer campañas de prevención e información acerca de la infección por el VIH a gran escala en la población, especialmente dirigida al adulto joven y los adolescentes, así como dirigir esfuerzos para fortalecer la pesquisa de VIH en la región, con la finalidad de realizar el diagnóstico y la

confirmación del mismo en etapas tempranas de la infección lo cual resulta importante tanto para el pronóstico de las personas infectadas por el VIH como para el desarrollo de estrategias de modificación de conducta para disminuir la propagación de la infección en la comunidad.

4. Por último resulta indispensable fomentar la educación sexual y promover el uso del preservativo para concientizar a la población y prevenir enfermedades de transmisión sexual.

## REFERENCIAS

Abbott Diagnostics. The Pathology of Viral Hepatitis. Hepatitis Learning Guide. Revisado el 04/07/2011 de:

[http://latinoamerica.abbottdiagnostics.com/ciencia/pdf/4\\_d.pdf](http://latinoamerica.abbottdiagnostics.com/ciencia/pdf/4_d.pdf)

Abbaszadegan M., Jafarzadeh N., Sankian M., Varasteh A., Mahmoudi M., Sadeghizadeh M., Khatami F.,<sup>1</sup> y Mehramiz N. (2008). Truncated MTA-1: A Pitfall in ELISA-Based Immunoassay of HTLV-1 Infection. Journal of Biomedicine and Biotechnology, Article ID 846371, 4 pages.

Abrahantes Y., Pérez J., Kourí V., Fonseca C., Baly A. y Tápanes T. (2010). Factores asociados a la progresión rápida a sida en individuos cubanos. REV CUBANA MED TROP; 62(2):146-53

Admou B., Elharti E., Oumzil H., Addebous A., Amine M., Zahlane K., Sora N., Zougaghi L., Haouach K., Tassi N., Aajly L., Chabaa L., y El Aouad R. (2010). Clinical and immunological status of a newly diagnosed HIV positive population, in Marrakech, Morocco. African Health Sciences; 10 (4):325-331

Alcamí J. (2004). Avances en la inmunopatología de la infección por el VIH. Enferm Infecc Microbiol Clin; 22 (8): 486-96

Ameli G. y Gutiérrez C. Infección por VIH-1 en pacientes no progresores a largo tiempo. (2007). Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel versión ISSN 0798-0477.v.38 n.2 Caracas.

Arias D., Pignatta S., Canónico V., Herrera L., Gutierrez A., Contreras R., Dávila N. y Stivel M. (2004). HTLV-I: Enfermedades Asociadas y Seroprevalencia en la Provincia de San Juan. HEMATOLOGIA, 8 (1): 15-23

Álvarez B., Revilla J., Ruiz B. y Calleja J. (2010). Hepatitis B reactivation and current clinical impact. REV ESP ENFERM DIG (Madrid); 102 (9): 542-552

Alves C. y Dourado L. (2010). Endocrine and metabolic disorders in HTLV-1 infected patients. *Braz J Infect Dis*; 14(6): 613-620

Bassani S, López M., Toro C., Jiménez V., Sempere J., Soriano V. y Benito J. (2007). Influence of Human T Cell Lymphotropic Virus Type 2 Coinfection on Virological and Immunological Parameters in HIV Type 1–Infected Patients. *Clinical Infectious Diseases*; 44:105-10.

Banerjee P., Feuer G., y Barker E. (2007) Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) p12I Down-Modulates ICAM-1 and -2 and Reduces Adherence of Natural Killer Cells, Thereby Protecting HTLV-1-Infected Primary CD4 T Cells from Autologous Natural Killer Cell-Mediated Cytotoxicity despite the Reduction of Major Histocompatibility Complex Class I Molecules on Infected Cells. *JOURNAL OF VIROLOGY*; 81 (18): 9707–9717

Beilke M., Theal K., O'Brien M., Clayton J., Benjamin S., Winsor E. y Kissinger P. (2004). Clinical Outcomes and Disease Progression among Patients Coinfected with HIV and Human T Lymphotropic Virus Types 1 and 2. *Clinical Infectious Diseases*; 39:256–63.

Benhamou Y. (2007). Hepatitis B in the HIV-Coinfected Patient. *J Acquir Immune Defic Syndr*; 45,2, 57-65.

BETCTON DICKINSON. (1993). Sistema FACSCoount guía de usuario.

Burastero S., Figini M., Frigerio B., Lusso P., Mollica L y Lopalco L. (2009). Protective versus pathogenic anti-CD4 immunity: insights from the study of natural resistance to HIV infection. *Journal of Translational Medicine*; 7 (101): 1-10

Buttò S., Suligoi B., Fanales E., y Raimondo M. (2010). Laboratory diagnostics for HIV infection. *Ann Ist Super Sanità*; 46 (1): 24-33

Brites C., Goyanna F., França L., Pedroso C., Netto E., Adriano S., Sampaio J. y Harrington Jr. (2011). Coinfection by HTLV-I/II is associated with an increased risk of strongyloidiasis and delay in starting antiretroviral therapy for AIDS patients. *Braz J Infect Dis*; 15 (1): 6-11.

Brites C., Sampaio J. y Oliveira A. (2009). HIV/Human T-cell Lymphotropic Virus Coinfection Revisited: Impact on AIDS Progression. *AIDS Reviews*; 11:8-16

Brooks G., Carroll K., Butel J., Morse S., Mietzner T. (2011). Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 25ª edición McGraw Hill. México

Campo R., Scerpella E. (1996). Avances recientes en HIV/SIDA: Patogénesis, historia natural y carga viral. Rev Med Hered; 7: 182-188. Revisado el 04/07/2011 de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v7n4/v7n4tr1.pdf>

Castro E. y Echeverría G. (1998) HTLV-I/II seroprevalence among gay men and female sex workers from Margarita Island, Venezuela. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 31: 391-393.

Constantine T. y Zink H. (2005). HIV testing technologies after two decades of evolution. Indian J Med Res; 121: 519-538.

Chang J., Wightman F., Bartholomeusz A., Ayres A., Kent S., Sasadeusz J. y Lewin S. (2005). Reduced Hepatitis B Virus (HBV)-Specific CD4 T-Cell Responses in Human Immunodeficiency Virus Type 1-HBV-Coinfected Individuals Receiving HBV-Active Antiretroviral Therapy. JOURNAL OF VIROLOGY; 79 (5): 3038-3051

D'Angelo P., Ameli G., Gutiérrez C. (2005). Detección del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 mediante la PCR, en neonatos de madres seropositivas. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología; 27: 79-84

Delgado R. (2011). Características virológicas del VIH. Enferm Infecc Microbiol Clin; 29 (1):58-65

Dybul M., Bolan R., Condoluci D., Cox-Iyamu R., Redfield R. Hallahan C., Folino M., Sathasivam K, Weisberg M., Andrews M., Bertha Hidalgo B., Vasquez J. y Fauci A. (2002). Evaluation of Initial CD4+ T Cell Counts in Individuals with Newly Diagnosed Human Immunodeficiency Virus Infection, by Sex and Race, in Urban Settings. The Journal of Infectious Diseases; 185:18.18–21.

Escobar E., Fardales V. y Abraham E. (2011). Marcadores inmunológicos y virales para la atención a pacientes con VIH-SIDA de la provincia Sancti-Spíritus, Cuba. 1989-2008. Rev Mex Patol Clin; 58 (1): 36-42

Eshleman S., Khaki L., Laeyendecker O., Piwowar E., Johnson L., Husnik M., Koblin B., Coates T., Chesney M., Vallari A., Devare S., y Hackett J. J Acquir (2009). Detection of Individuals with Acute HIV-1 Infection using the ARCHITECT® HIV Ag/Ab Combo Assay. Immune Defic Syndr; 52 (1): 121-124.

Fanales E., Raimondo M., Suligoi B. y Buttò S. (2010). HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanità*; 46 (1): 5-14

Ferreira L., Caramelli P., Freitas A. (2010) Human t-cell lymphotropic virus type 1 (htlv-1): when to suspect infection?. *Rev Assoc Med Bras*; 56(3): 340-7.

Forbi J., Forbi T. y Agwale S. (2010). Estimating the time period between infection and diagnosis based on CD4+ counts at first diagnosis among HIV-1 antiretroviral naïve patients in Nigeria. *J Infect Dev Ctries*; 4 (10):662-667.

Ford E., Puronen C., y Sereti I. (2009). Immunopathogenesis of Asymptomatic Chronic HIV Infection: The Calm before the Storm. *Curr Opin HIV AIDS*; 4 (3): 206-214.

Franciscus A., Highleyman L., Kukka C., Mazoff C. y Maltrás C. (2008). Guía para Comprender la Hepatitis B. Hepatitis C Support Project. Versión 4.1. Revisado el 12/06/2011 de: [http://www.hcvadvocate.org/hepatitis/sp\\_factsheets/guia\\_VHB.pdf](http://www.hcvadvocate.org/hepatitis/sp_factsheets/guia_VHB.pdf)

Gaspar-Sobrinho F., Souza A., Santos S., Orge G., Lessa H., Cruz A. y Carvalho E. (2010). Clinical and immunological features of patients with atopy and concomitant HTLV-1. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*; 43 (12):1167-1172

Geretti A., Patel M., Sarfo F., Chadwick D., Verheyen J., Fraune M., Garcia A., y Odame R. (2010). Detection of Highly Prevalent Hepatitis B Virus Coinfection among HIV-Seropositive Persons in Ghana. *Journal Of Clinical Microbiology*; 48 (9):3223-3230

Gomes R., Aparecida M., Silva M., Nunes S., Valadares F., Ribas J., Freitas A. y Lobato M. (2010). Evaluation of the use of real-time PCR for human T cell lymphotropic virus 1 and 2 as a confirmatory test in screening for blood donors. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(2):111-115.

Goncalves D., Proietti F., Ramos J., Araujo M., Pinheiro S., Guedes A. y Carneiro A. (2010). Epidemiology, Treatment, and Prevention of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1-Associated Diseases. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*; 23 (3): 577–589.

Gonzales H. y Salinas J. (2009). Historia Natural de la Infección Crónica por el Virus Hepatitis B. *Rev. Gastroenterol. Perú*; 29 (2): 147-157

González J., Rodríguez M. y Mateos M. (2011). Determinación de la carga viral del VIH-1. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 29 (3): 47-50

González-García J. Amela C., Amo J., Bruguera M., Castilla J., Echevarría J., Esteban-Mur J., García-Samaniego J., Guerra L., Muga R., Pachón I., Pérez J., Quereda C., Romero J., Sánchez J., Sanz J., Soriano V. y Wichman M. (2002). Documentos de consenso de GESIDA sobre terapia antirretroviral y enfermedades asociadas al VIH (2000-2002).

Gotuzzo E., González E., Verdonck K., Mayer E., Ita F. y Clark D. (2010). Veinte años de investigación sobre HTLV-1 y sus complicaciones médicas en el Perú: Perspectivas generales. *Acta Med Per* 27 (3).

Govender S., Otworld K., Essien T., Panchia R., Bruyn G., Mohapi L., Gray G. y Martinson N. (2014). CD4 Counts and Viral Loads of Newly Diagnosed HIV Infected Individuals: Implications for Treatment as Prevention. *PLOS ONE* | [www.plosone.org](http://www.plosone.org). Volume 9, issue 3 | e90754

Gutiérrez C., Pacheco M., Sánchez D., Ameli G., Moncada M., Chacón E. y Morón D. (2009). Comparación de dos métodos comerciales para determinación de carga viral en plasmas provenientes de pacientes venezolanos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1). *Rev Panam Infectol*; 11(2): 44-49.

Gutiérrez C., D'Angelo P., Sánchez D., Ameli G. y Chacón E. (2012). Coinfección de hepatitis B y/o hepatitis C en pacientes infectados por virus de inmunodeficiencia humana (VIH). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*; 32:153-156

Halabe J. y Angulo F. (2000). Hepatitis viral. *Rev Fac Med UNAM*; 43 (3): 90-100

Hernández, S., Fernández, C. y Baptista, L. (2003). *Metodología de la Investigación*. (3a ed). Mc Graw-Hill Interamericana.

Hoshino H. (2012). Cellular factors involved in HTLV-1 entry and pathogenicity. Yasuko Yokota, National Institute of Infectious Diseases, Japan. Volume 3 Article 222

Idoko J., Meloni S., Muazu M., Nimzing L., Badung B., Hawkins C., Sankalé J., Ekong E., Murphy R., Kanki P. y Thio C. (2009). Impact of hepatitis B virus infection on HIV response to antiretroviral therapy in Nigeria. *Clin Infect Dis*; 49 (8): 1268-1273.

Iser D., Warner N., Revill P., Solomon A., Wightman F., Saleh S., Crane M., Cameron P., Bowden S., Nguyen T., Pereira C., Desmond P., Locarnini S., y Lewin S. (2010). Coinfection of Hepatic Cell Lines with Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus Leads to an Increase in Intracellular Hepatitis B Surface Antigen. *Journal of Virology*; 84 (12): 5860-5867.

Irish B., Khan Z., Jain P., Nonnemacher M., Pirrone V., Rahman S., Rajagopalan N., Suchitra J., Mostoller K. y Wigdahl B. (2009). Molecular Mechanisms of Neurodegenerative Diseases Induced by Human Retroviruses: A Review. *Am J Infect Dis*. 1; 5(3): 231–258.

Jaldín J., Collino C., Peralta S., Roland H. y Chiabrando G. (2008). Establecimiento de intervalos de referencia en subpoblaciones linfocitarias por citometría de flujo. *Acta Bioquím Clín Latinoam*; 42 (4): 529-38

Journo C. y Mahieux R. (2011). HTLV-1 and Innate Immunity. *Viruses*; 3: 1374-1394

Jung M. y Pape G. (2002). Immunology of hepatitis B infection. *Infectious Diseases Vol 2*: 43–50.

Kannian P. y Green P. (2010). Human T Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1): Molecular Biology and Oncogenesis. *Viruses*, 2, 2037-2077

Kindt T., Goldsby R. y Osberne B. (2007). *Inmunología de Kuby*. (6ta ed). Mc Graw-Hill Interamericana.

Law W., Duncombe C., Mahanontharit A., Boyd A., Ruxrungtham K., Lange J., Phanuphak P., Cooper D., y Dore G. (2004). Impact of viral hepatitis co-infection on response to antiretroviral therapy and HIV disease progression in the HIV-NAT cohort. *AIDS*, 18:1169–1177

Lacombe K., Bottero J., Lemoine M., Boyd A. y Girard P. (2010). HIV/hepatitis B virus co-infection: current challenges and new strategies. *J Antimicrob Chemother*; 65: 10-17

Lairmore M., Anupam R., Bowden N., Haines R., Haynes II R., Ratner L. y Green P. (2011). Molecular Determinants of Human T-lymphotropic Virus Type 1 Transmission and Spread. *Viruses*; 3,:1131-1165

Laufer N., Quarleri J., Bouzas M., Perez H., Salomon H. Y Cahn P. (2007). Coinfecciones por HBV y HCV en pacientes HIV positivos en la "ERA HAART": nuevos desafíos. *MEDICINA (Buenos Aires)*; 67: 82-91

León, G., Quirós, A., López, J., Hung M., Diaz A., Goncalves J. (2003). Seropositividad al Virus Linfotropico de células T humanas tipo I y II en donantes del Banco Municipal de Sucre de Caracas y factores de riesgo asociados. *Rev Panam Salud Publica*, 13 (2-3), 117-23.

Levy V., Grant R. y Cabezas C. Manejo de la coinfección por virus de hepatitis b y VIH en el Perú. (2007). *Rev Peru Med Exp Salud Publica*; 24 (4):398-404

Márquez Y., Pimentel Z., Castillo S., Santiago M., Urdaneta J., Martínez A. y Escalona P. (2016). Frecuencia del virus linfotropico de las células t humanas tipo I/II en pacientes que asisten a la unidad programática regional de inmunología clínica del estado Aragua 2012, Venezuela. 28(1): Enero-Marzo, 2016. (código OJS/UDO: 1710-6263-1-SM)

Ministerio del Poder Popular para la Salud y Ministerio del Poder Popular para Relaciones Exteriores. (2010) .Informe nacional relativo a los avances en la implementación de la declaración de compromisos sobre VIH/SIDA (2001) y declaración política VIH/SIDA (2006). República Bolivariana De Venezuela. Revisado el 08/06/2011 de: [http://rochr.grc.com/bitstream/123456789/1330/1/venezuela\\_2010\\_country\\_progress\\_report\\_es.pdf](http://rochr.grc.com/bitstream/123456789/1330/1/venezuela_2010_country_progress_report_es.pdf)

Ministerio del Poder Popular para la Salud y Programa Nacional de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida e Infecciones de Transmisión Sexual. (2008). Guía para el manejo clínico y terapéutico de los pacientes con VIH/SIDA coinfectados con hepatitis b y c crónica. República Bolivariana De Venezuela. Revisado el 05/06/2011 de:

[http://www.stopvih.org/pdf/Guia\\_para\\_el\\_manejo\\_clinico\\_y\\_terapeutico\\_de\\_pacientes\\_con\\_VIH\\_y\\_Sida\\_coinfectados\\_con\\_hepatitis\\_b\\_y\\_c\\_cronica\\_2008.pdf](http://www.stopvih.org/pdf/Guia_para_el_manejo_clinico_y_terapeutico_de_pacientes_con_VIH_y_Sida_coinfectados_con_hepatitis_b_y_c_cronica_2008.pdf)

Ministerio de Salud. MINSAL (2009) Guía Clínica de MANEJO Y TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB). Santiago de Chile. Revisado el 30/06/2011 de: <http://www.redsalud.gov.cl/portal/url/item/81a0867092aa9f15e04001011f0114b2.pdf>

Mogensen T., Melchjorsen J., Larsen C. y Paludan S. (2010). Innate immune recognition and activation during HIV infection. *Retrovirology*; 7 (54): 1-19

Mohammadi M., Talei G., Sheikhan A., Ebrahimzade F., Pournia Y., Ghasemi E. y Hadis B. (2009). Survey of both hepatitis B virus (HBsAg) and hepatitis C virus (HCV-Ab) coinfection among HIV positive patients *Virology Journal*; 6 (202): 1-6

Mphahlele M. (2008). Impact of HIV co-infection on hepatitis B prevention and control: a view from sub-Saharan Africa. *The Southern African Journal of Epidemiology and Infection*; 23 (1): 14-18

Nikolopoulos G., Paraskevis D., Hatzitheodorou E., Moschidis Z., Sypsa V., Zavitsanos X., Kalapothaki V. y Hatzakis A. (2009). Impact of Hepatitis B Virus Infection on the Progression of AIDS and Mortality in HIV-Infected Individuals: A Cohort Study and Meta-Analysis. *HIV/AIDS*; 48: 1763-1771

Norris P., Hirschorn D., DeVita D., Lee T. y Murphy E. (2010). Human T cell leukemia virus type 1 infection drives spontaneous proliferation of natural killer cells. *Virulence*; 1 (1): 19-28

Ndhlovu L., Leal F., Hasenkrug A., Jha A., Carvalho K., Eccles-James J., Bruno F., Vieira R., York V., Chew G., Jones B., Tanaka Y., Neto W., Sanabani S., Ostrowski M., Segurado A., Nixon D., y Kallas E. (2011). HTLV-1 Tax Specific CD8+ T Cells Express Low Levels of Tim-3 in HTLV-1 Infection: Implications for Progression to Neurological Complications. | Volume 5 | Issue 4 | e1030

Ocana S., Casas M., Buhigas I. y Lledo J. (2011). Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*; 17(12): 1553-1557

Olufemi O., Anteyi E., Ajuwon Z., Wada I., Elegba F., Ahmed P., Betiku Y., Okpe A., Eze S., Ogbecbe T. y Efosa G. (2009). Hepatitis B and C virus co-infection in Nigerian patients with HIV infection. *J Infect Dev Ctries*; 3 (5):369-375.

Peña S., Oletta J., Carvajal A., Larrea F., Echezuría L., Borges R., Avilán J., Rísquez A. y Parra H. (2009). NOTICIAS EPIDEMIOLÓGICAS N° 12. Situación del VIH-SIDA en Venezuela. Red de Sociedades Científicas Médicas De Venezuela. Revisado el 05/06/2011 de: [http://www.rscmv.org.ve/pdf/noticias\\_epidemiologicas9.pdf](http://www.rscmv.org.ve/pdf/noticias_epidemiologicas9.pdf)

Petravic J. y Davenport M. (2011). Simian-Human Immunodeficiency Infection – Is the Course Set in the Acute Phase? *PLoS ONE*; 6 (2) 17180

Poetker S., Porto A., Giozza S., Muniz A., Caskey M., Carvalho E. y Glesby M. (2011) Clinical Manifestations in Individuals with Recent Diagnosis of HTLV Type I Infection. *Clin Virol*; 51(1): 54–58

Polo P., Castañeda C., Sierra M., Alvis N. (2010). Hepatitis B oculta en pacientes VIH positivos de una institución de salud en Barranquilla Colombia. *Infectio.*; 14 (1): 39-46

Porto L., Moronta R., Cuadra C., Callejas D., Costa L., Monsalve F., Bernardoni C. y Estévez J. (2008). Carga viral en pacientes pediátricos VIH positivos con terapia antirretroviral. *Rev Méd Chile*; 136: 1021-1026

Pseudos G., Hun J., Suh J. y Victoria Lee V. (2010). Predictors of loss of hepatitis B surface antigen in HIV-infected patients, *World J Gastroenterol*; 16 (9): 1093-1096

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA (2012). Informe nacional de avances en la implementación de la declaración de compromisos sobre VIH/SIDA (2001) y la declaración política sobre VIH/SIDA (2006 y 2011). Revisado el 10 de agosto del 2015 de: [http://www.unaids.org/sites/default/files/en/dataanalysis/knownyourresponse/country/progressreports/2014countries/VEN\\_narrative\\_report\\_2014.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/en/dataanalysis/knownyourresponse/country/progressreports/2014countries/VEN_narrative_report_2014.pdf)

Romero M., Madejón A., Fernández C. y García J. (2011). Clinical significance of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*; 17 (12): 1549-1552

Samo E., Bhatt N., Ramalho D., Monteiro C., Tanuri A., Savino W., Silva S. y Jani I. (2009). Co-infection by human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1): does immune activation lead to a faster progression to AIDS?. *BMC Infectious Diseases*; 9 (211): 1-13.

Sandoval E., Chavarría Y., Bustillo K. (2009) Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes adultos con VIH en el instituto hondureño de seguridad social. *REV MED HONDUR*; 77(4): 153-192

Santos A., Alvarado M., Botelho L., Vieira D., Rebello J., Carrilho F., Honda E. y Salcedo J. (2010). Characterization of Hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil *Virology Journal*; 7 (315): 1-7

Saravanan S., Velu V., Kumarasamy N., Nandakumar S., Gangatharan K., Balakrishnan P., Suniti S., y Panchatcharam S. (2007). Coinfection of hepatitis B and hepatitis C virus in HIV-infected patients in south India. *World J Gastroenterol*; 13 (37): 5015-5020

Siemens VERSANT. (2008). HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNA)

Silva W. Braga M. Costa M., Vale I., Sabóia M. y Cotrim A. (2006). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39(6):519-522.

Schweneker, M., Favre, D., Martin, J., Deeks, S. y Joseph M. (2008). HIV-Induced Changes in T Cell Signaling Pathways. *J Immunol*; 180 (10): 6490–6500.

Streeck, H., Jolin, J., Qi, Y., Yassine-Diab, B., Johnson, R., Kwon, M., Addo, D., Brumme, CH., Routy, J., Little, S., Jessen, H., Kelleher, A., Hecht, F., Sekaly, F., Rosenberg, E., Walker, B., Carrington, M. y Altfeld, M. (2009). Human Immunodeficiency Virus Type 1-Specific CD8 T-Cell Responses during Primary Infection Are Major Determinants of the Viral Set Point and Loss of CD4 T Cells. *Journal of virology*; 15 (83): 7641–7648.

Tang H., Mao Y., Shi C., Han J., Wang L., Xu J., Qin Q, Detels R. y Zunyou Wu Z. (2014). Baseline CD4 Cell Counts of Newly Diagnosed HIV Cases in China: 2006–2012. *PLOS ONE*; Volume 9 Issue 6 e96098.

Tienen C, Schim M., Peterson I., Cotton M., Andersson S., Holmgren B., Vincent T., De Silva T., Rowland S., Aaby P. y Whittle H. (2011). HTLV-1 and HIV-2 Infection

Are Associated with Increased Mortality in a Rural West African Community. PLoS ONE; 6 (12): e29026.

Toro C., Ramos B. y Soriano V. (2006). Implicaciones diagnósticas, clínicas y terapéuticas de las hepatitis virales en el paciente infectado por el VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 24 (1):30-5

Tovar, V., Guerra M. y Araujo, A. (2008). Perfil epidemiológico de personas VIH/SIDA asistidas odontológicamente en el centro de atención a personas con enfermedades infectocontagiosas. (CAPEI/UCV) Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela. *Acta Odontológica Venezolana - VOLUMEN 46 N° 4*.

Turci M., Pilotti E., Ronzi P., Magnani G., Boschini A., Parisi S., Zipeto D., Lisa A., Casoli C. y Bertazzoni U. Coinfection With HIV-1 and Human T-Cell Lymphotropic Virus Type II in Intravenous Drug Users Is Associated With Delayed Progression to AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr*;41:100–106.

Tsongalis G. (2006). Branched DNA Technology in Molecular Diagnostics. *Am J Clin Pathol*; 126: 448-453

UNAIDS. REPORT ON THE GLOBAL AIDS EPIDEMIC. (2010). Revisado el 04/06/2011 de: [http://www.unaids.org/documents/20101123\\_GlobalReport\\_em.pdf](http://www.unaids.org/documents/20101123_GlobalReport_em.pdf)

UNAIDS. REPORT ON THE GLOBAL AIDS EPIDEMIC. (2012). Revisado el 04/10/2012 de: [http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120\\_UNAIDS\\_Global\\_Report\\_2012\\_with\\_annexes\\_en.pdf](http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_en.pdf)

Valer L., Mendoza C. y Soriano V. (2003). Superinfección por el virus de la inmunodeficiencia humana: implicaciones clínicas y biológicas. *Med Clin (Barc)*; 121(5):192-6

Yábar C. (2003). Eventos moleculares, genéticos e inmunológicos durante la interacción VIH-hombre. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*; 20 (2): 107-115

Zhou L., Saksena N.K. (2013). HIV Associated Neurocognitive Disorders. *Infect Dis Rep*.5: (38-50)

**ANEXO 1**  
**REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA**  
**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**COORDINACIÓN DE POSTGRADUADIDAD PROGRAMÁTICA REGIONAL DE**  
**INMUNOLOGÍA CLÍNICA (UPRIC)**  
**MARACAY**

**Consentimiento para Participar en un Estudio de Investigación**

**Título del Proyecto:** “Contaje de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B en pacientes que acuden a la Unidad Programática Regional de Inmunología Clínica (UPRIC) Maracay Edo Aragua”

**VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana**

**VHB: Virus de Hepatitis B**

**HTLV: Virus Linfotrópico de Células T Humano**

Este documento es un consentimiento que le proporciona información previa sobre el estudio, el cual le será explicado completamente por el personal que realiza el estudio. El personal además le dará tiempo suficiente para leer y comprender este documento, y luego hacer preguntas que le permitan aclarar cualquier duda que tenga antes que decida participar o no en el estudio. Por favor, tómese el tiempo que requiera para leer este documento de consentimiento. Así mismo, siéntase libre de hacer preguntas en cualquier momento, y de pedirle al personal del estudio que le explique cualquier información que no haya comprendido. Si usted está de acuerdo en formar parte en este estudio, se le pedirá que firme este documento de consentimiento.

**1. PROPÓSITO:**

La investigación se realiza como tesis de grado de la Lic. Yaraceli Márquez y como tutora del presente trabajo se encuentra la Lic. MSc. Zulitza Pimentel; ambas licenciadas en Bioanálisis que laboran en la Unidad Programática Regional de Inmunología Clínica (UPRIC) Maracay Edo Aragua.

El objetivo principal del estudio es:

Evaluar el conteo de linfocitos T y carga viral para Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 en pacientes coinfectados con Virus Linfotrópico de Células T y Virus Hepatitis B.

Objetivos específicos:

Determinar el conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> por citometría de flujo a pacientes coinfectados y a pacientes sin coinfección.

Determinar carga viral VIH-1 a través del método bDNA System a pacientes coinfectados y a pacientes sin coinfección.

Comparar ambos grupos de estudio.

**2. PROCEDIMIENTOS:** Si usted decide participar en el estudio, después de comprender y firmar el presente consentimiento:

✓ Se le solicitará una muestra de sangre de 10 mL que le será extraída de la vena del brazo y la cual será distribuida en dos porciones, donde 5ml serán para realizar las pruebas diagnósticas HTLV I/II y VHB, el resto será para la realización del conteo de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> y carga viral VIH-1 indispensables para completar su diagnóstico.

✓ Se le indicará que regrese dos semanas después, para retirar sus resultados.

**3. RIESGOS PARA EL PARTICIPANTE:** La sangre será extraída de su antebrazo con una aguja por un técnico de laboratorio con experiencia, o por la Licenciada. El riesgo que pueda salir lastimado durante la colecta de la sangre es mínimo, pero es posible que sienta algún dolor o incomodidad cuando le extraigan la sangre de su antebrazo.

**4. BENEFICIOS POTENCIALES:** Los posibles beneficios que usted obtendrá al participar en este estudio son:

✓ Que le realicen las pruebas diagnósticas de otras Enfermedades de Transmisión Sexual como VHB y HTLV I/II sin costo alguno.

✓ Que usted sea referido para atención médica gratuita en el caso que resulte positivo para cualquiera de estos parámetros.

**5. COSTOS Y COMPENSACION:** Usted no tendrá que pagar por las visitas o cualquier otro procedimiento relacionado con este estudio. Tampoco recibirá ningún pago en efectivo por participar en el estudio, ni tampoco recibirá compensación por su tiempo por venir al sitio de estudio. No se le pagará o compensará por lesiones de largo plazo que puedan resultar como consecuencia de su participación en este estudio.

**6. CUIDADOS MEDICOS POR LESIONES RELACIONADAS CON LA INVESTIGACION:** Si usted sufre alguna lesión a consecuencia de su participación en este estudio, por ejemplo, una infección en el sitio donde se extrajo la sangre, usted recibirá la atención médica necesaria en la red de salud pública pero no una

compensación monetaria por la lesión que el procedimiento de extracción de sangre le pueda ocasionar.

**7. CONFIDENCIALIDAD DEL INDIVIDUO:** El personal de este estudio hará hasta donde sea legalmente posible para proteger y no revelar su información personal y su participación en este estudio. La información obtenida en este estudio puede ser usada en reportes oficiales del estudio, publicaciones, o en presentaciones orales, pero ni su nombre ni cualquier otra información personal serán usados jamás. Nosotros mantendremos los documentos en privado hasta donde sea legalmente posible.

**8. PARTICIPACION VOLUNTARIA:** Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Usted puede elegir no participar en él o dejar el estudio en cualquier momento sin sanción de algún tipo. Si usted decide dejar el estudio le pediremos que por favor informe su decisión a los investigadores en cuestión.

**Si usted ha leído esta ficha de consentimiento (o le ha sido explicada), y está satisfecho con las repuestas que le han dado a todas sus preguntas sobre el estudio y está de acuerdo en participar en el mismo, por favor firme con su nombre en la parte inferior.**

Código: \_\_\_\_\_

Nombre y Apellido del Participante: \_\_\_\_\_

C.I.: \_\_\_\_\_ Firma del Participante \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Teléf. \_\_\_\_\_

Nombre del Testigo (Si fuese necesario)

Código: \_\_\_\_\_

Nombre y Apellido del Participante: \_\_\_\_\_

C.I.: \_\_\_\_\_ Firma del Participante \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Teléf. \_\_\_\_\_

**En caso de que usted decida retirarse voluntariamente del estudio, por favor firme con su nombre en la parte inferior.**

Código: \_\_\_\_\_

Nombre y Apellido del Participante: \_\_\_\_\_

C.I.: \_\_\_\_\_ Firma del Participante \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Teléf. \_\_\_\_\_

## ANEXO 2

### DETERMINACIÓN DE HBsAg y HBcAb

**Bioelisa HBsAg 3.0** es un método inmunoenzimático directo, de tipo «sandwich», en el que los pocillos de una microplaca han sido recubiertos con anticuerpo de cobaya anti-HBs que actúa como anticuerpo de captura y que utiliza como conjugado anticuerpo de cabra anti-HBs marcado con peroxidasa. La muestra a analizar se incuba en uno de los pocillos de la microplaca. Si la muestra contiene HBsAg éste se fijará al anticuerpo anti-HBs unido a la placa. Después de lavar para extraer el material no fijado, se añade el anticuerpo de cabra anti-HBs conjugado con peroxidasa, que reaccionará con el posible complejo antígeno-anticuerpo formado en la primera incubación. Después de esta segunda incubación y posterior lavado se procede a la adición del sustrato enzimático que contiene un cromógeno, lo que dará como resultado la aparición de color azul si la muestra es positiva para HBsAg. El color azul cambia a amarillo después de parar la reacción con ácido sulfúrico. La intensidad del color es proporcional a la concentración de HBsAg en la muestra.

#### Control de calidad

Los resultados de un ensayo son válidos si se cumplen los siguientes criterios:

- Blanco del sustrato: el valor de absorbancia debe ser inferior o igual a 0,100.

- Valor medio del control negativo (CNx): calcular el promedio de los valores de absorbancia obtenidos para el control negativo.
- Control positivo (CP): el valor de absorbancia obtenido para el control positivo debe ser igual o mayor que 0,700 después de restar el blanco.
- Si alguno de los criterios arriba no se cumple, el ensayo no es válido y se deberá repetir.

## Resultados

La presencia o ausencia de HBsAg en las muestras a analizar se determina relacionando el valor de la absorbancia de cada muestra con el valor umbral.

- Calcular el valor umbral añadiendo 0,040 a la media del control negativo. Valor umbral =  $CN_x + 0,040$
- Dividir la absorbancia de la muestra por el valor umbral.
- Positivo: relación absorbancia/valor umbral  $\geq 1,0$
- Negativo: relación absorbancia/valor umbral  $< 0,9$
- Dudoso: relación absorbancia/valor umbral  $\geq 0,9 < 1,0$

## Interpretación de los resultados

Un resultado repetidamente positivo para HBsAg es indicativo de la existencia de infección por el virus de la hepatitis B. Para determinar si se trata de una infección aguda o crónica deben analizarse otros marcadores serológicos de la hepatitis B estudiando paralelamente el cuadro clínico del paciente.

**Bioelisa anti-HBc** es un método inmunoenzimático competitivo para la determinación de anticuerpos contra el HBcAg en suero humano. El ensayo está basado

en la competencia entre anticuerpos humanos presentes en la muestra y anticuerpos IgG de conejo anti-HBc conjugados con peroxidasa cuando se incuban simultáneamente en los pocillos de una microplaca recubierta con HBcAg recombinante. Después de la incubación se efectúa un lavado para eliminar el material no fijado y a continuación se añade una solución de sustrato enzimático y cromógeno. Esta solución desarrollará un color azul cuando la muestra sea negativa. El color azul cambia a amarillo después de parar la reacción con ácido sulfúrico. La presencia de anti-HBc en la muestra reduce el desarrollo de color de forma proporcional a su concentración.

#### Control de calidad

Los resultados de un ensayo son válidos si se cumplen los siguientes criterios:

- Blanco del sustrato: el valor de absorbancia debe ser inferior o igual a 0,100.
- Control negativo: cada uno de los valores individuales de absorbancia no debe variar más del 20% de la media de los cuatro valores. La media de las absorbancias debe ser igual o mayor que 0,600 después de restar el blanco.
- Control positivo: la media de las absorbancias debe ser igual o menor que 0,100 después de restar el blanco.
- Resultados
- Calcular el valor umbral sumando el valor promedio de absorbancias del control negativo y el del control positivo y multiplicando el resultado de esta suma por 0,4.  
Valor umbral =  $(CNx + CPx) \times 0,4$
- Dividir la absorbancia de la muestra por el valor umbral.
- Positivo:  $\text{ratio absorbancia/valor umbral} \leq 1,0$
- Negativo:  $\text{ratio absorbancia/valor umbral} > 1,1$
- Dudoso:  $\text{ratio absorbancia/valor umbral} > 1,0 \leq 1,1$
- Interpretación de los resultados

## **DETERMINACIÓN DE HTLV I/II**

El kit bioelisa HTLV-I+II 5.0 ha sido diseñado como enzimo-inmunoensayo semi-cuantitativo para la detección de anticuerpos frente a los virus HTLV-I y HTLV-II en suero o plasma humano. Su uso previsto es como test de cribado. Es preciso volver a analizar las muestras inicialmente reactivas y confirmar el resultado de las muestras repetidamente reactivas con pruebas complementarias.

### Principio

Los pocillos de las tiras de microplacas de poliestireno están recubiertos de una mezcla de tres proteínas recombinantes diferentes de HTLV, que corresponden a los segmentos altamente antigénicos de los virus HTLV-I y HTLV-II. El conjugado está basado en una proteína recombinante de triple fusión, marcada con peroxidasa de rábano. El antígeno de fusión triple se genera clonando tres fragmentos de ADNc que codifican las tres proteínas recombinantes de HTLV en un único vector. El suero o plasma humano, diluido en el diluyente que contiene el conjugado, se incuba en un pocillo recubierto. Los anticuerpos específicos contra HTLV-I/II (IgA, IgG e IgM), si están presentes, se unen tanto a los antígenos inmovilizados en la fase sólida como al antígeno de triple fusión del conjugado. Después de la incubación, se lavan bien los pocillos para eliminar el material que no se haya unido. Luego, se agrega a cada pocillo una solución incolora de sustrato que contiene el cromógeno 3,3', 5,5' - tetrametilbenzidina (TMB). La presencia de anticuerpos específicos se indica por la presencia de una coloración azul tras la incubación, que se torna amarilla cuando la reacción de color se detiene al agregar ácido sulfúrico. Con un espectrofotómetro se mide la intensidad del producto amarillo resultante a 450 nm, y esta es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra.

### Control de calidad

- Asegúrese que cada muestra y control se mezclan correctamente con el CONJUGADO DE TRABAJO, pipeteando arriba y abajo como mínimo una vez después de la adición.

- El cambio de color del CONJUGADO DE TRABAJO indica que el suero o plasma ha sido dispensado.
- El BLANCO debe ensayarse en un pocillo, mientras que el CONTROL NEGATIVO y el CONTROL POSITIVO debe ensayarse por triplicado en cada placa con cada serie de muestras.
- Los valores de absorbancia del blanco deben ser  $\leq 0,100$ .
- Los valores de absorbancia del Control Negativo deben ser  $\leq 0,100$  tras restar el valor del blanco.
- Al menos dos de los tres valores del Control Positivo deben tener una absorbancia  $\geq 0,600$  después de restar los valores del blanco. Cualquier valor fuera de este rango no deberá utilizarse para calcular la media del Control Positivo (CPx)
- La presencia o ausencia de anticuerpos específicos frente a HTLV-I/II se determina relacionando la absorbancia de las muestras con el VALOR UMBRAL (COV) de la placa.
- El VALOR UMBRAL se calcula sumándose 0,250 a la absorbancia media del Control Negativo:  $\text{VALOR UMBRAL} = 0,250 + \text{CNx}$

#### Interpretación de los resultados

- Las muestras con valores de absorbancia menores que el VALOR UMBRAL se consideran no reactivas.
- Las muestras con valores de absorbancia mayores o iguales al VALOR UMBRAL se consideran inicialmente reactivas según el criterio del bioelisa HTLV-I+II 5.0 y deberían volver a analizarse por duplicado antes de su interpretación.

Una vez determinado el VHB (HBsAg/HBcAb) y el HTLV I/II en los pacientes VIH positivos se realizara el conteo de linfocitos T CD4+/CD8+/CD3+ y carga viral VIH-1 de los pacientes coinfectados y a los pacientes sin coinfección.