

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>xii</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>xv</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xvii</b>
<b>L INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Epidemiología</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1 Virus de la Inmunodeficiencia Humana Tipo 1.</b>	<b>3</b>
<b>Prevalencia y factores de riesgo.</b>	
<b>1.1.2 Virus de la Hepatitis C.</b>	<b>7</b>
<b>Prevalencia y factores de riesgo.</b>	
<b>1.1.3 Coinfección VIH-1 / VHC.</b>	<b>12</b>
<b>Prevalencia.</b>	
<b>1.2 Biología Molecular del Virus de la</b>	<b>14</b>
<b>Inmunodeficiencia Humana Tipo 1 (VIH-1).</b>	
<b>1.3 Biología Molecular del virus de la Hepatitis C.</b>	<b>17</b>
<b>1.4 Marcadores Moleculares.</b>	<b>21</b>
<b>1.5 Factores involucrados en el desarrollo de la</b>	<b>23</b>
<b>coinfección VIH-1/VHC.</b>	
<b>1.5.1 Marcadores genéticos para el VIH-1.</b>	<b>24</b>
<b>1.5.2 Marcadores genéticos para el VHC.</b>	<b>30</b>

	<b>Página</b>
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>32</b>
<b>III. OBJETIVOS</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Objetivo General.</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos.</b>	<b>34</b>
<b>IV. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Área física.</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Sujetos incluidos en el estudio.</b>	<b>35</b>
<b>4.2.1 Sujetos controles.</b>	<b>35</b>
<b>4.2.2 Sujetos infectados con VIH-1 y/o VHC.</b>	<b>36</b>
<b>4.3 Número de pacientes, base de datos y     confidencialidad.</b>	<b>37</b>
<b>4.4 Material biológico.</b>	<b>37</b>
<b>4.5 Reactivos.</b>	<b>38</b>
<b>4.6 Equipo.</b>	<b>40</b>
<b>4.7 Programas de análisis computacional</b>	<b>40</b>
<b>4.8 Métodos.</b>	<b>41</b>
<b>4.8.1 Datos demográficos e historia clínica.</b>	<b>41</b>
<b>4.8.2 Estudios serológicos.</b>	<b>41</b>
<b>4.8.2.1 Estudios bioquímicos.</b>	<b>43</b>
<b>4.8.2.2 Estudios de anticuerpos.</b>	<b>43</b>
<b>4.8.3 Estudios moleculares.</b>	<b>44</b>

	<b>Página</b>
<b>5.2 Características demográficas y clínicas de los sujetos incluidos en el estudio.</b>	<b>61</b>
<b>5.3 Factores de riesgo.</b>	<b>65</b>
<b>5.4 Identificación cualitativa del genoma del VHC en un grupo de sujetos infectados con VIH-1.</b>	<b>69</b>
<b>5.5 Identificación de los polimorfismos de los genes que codifican para el correceptor CCR5 y la apolipoproteína E en un grupo de sujetos infectados y coinfectados con VIH-1/VHC.</b>	<b>71</b>
<b>5.5.1 ADN genómico extraído a partir de las muestras de sangre periférica.</b>	<b>71</b>
<b>5.5.2 Genotipificación de los polimorfismos de los genes que codifican para el correceptor CCR5.</b>	<b>72</b>
<b>5.5.3 Genotipificación de los genes que codifican para la apolipoproteína E.</b>	<b>74</b>
<b>5.5.3.1 Detección de los polimorfismos del gen que codifica para la apolipoproteína E.</b>	<b>75</b>
<b>5.6 Correlación de los hallazgos moleculares con la presencia de la coinfección en relación al grupo de</b>	<b>79</b>

**sujetos infectados únicamente con VIH-1, al grupo infectado con VHC o con el grupo de sujetos que no están infectados con ninguno de los dos virus.**

**5.6.1 Asociación de CCR5 e infección por VIH-1 y/o VHC. 79**

**5.6.2 Asociación de Apo E e infección por VIH-1 y/o VHC. 81**

**5.7 Correlación estadística entre las variables dependientes e independientes en el contexto de los diferentes grupos de sujetos. 83**

**5.8 Análisis de Hardy-Weinberg 85**

**VI. CONCLUSIONES 86**

**VII. DISCUSIÓN 89**

**VIII. PERSPECTIVAS 96**

**BIBLIOGRAFÍA 97**

**APÉNDICES 107**

**APÉNDICE A. - Carta de consentimiento informado. 108**

**APÉNDICE B. - Preparación de reactivos. 110**

**APÉNDICE C. - Electroforesis en geles de agarosa. 111**

## LISTA DE TABLAS

<b>Tablas</b>		<b>Página</b>
<b>Tabla I.</b>	<b>Prevalencia de la coinfección en grupos de alto riesgo.</b>	<b>13</b>
<b>Tabla II.</b>	<b>Programa de amplificación aplicado en la RT-PCR para la determinación cualitativa del Virus de la Hepatitis C.</b>	<b>47</b>
<b>Tabla III.</b>	<b>Información general de los Primers empleados en la primera amplificación para la identificación cualitativa del VHC.</b>	<b>48</b>
<b>Tabla IV.</b>	<b>Programa de amplificación para la determinación cualitativa del Virus de la Hepatitis.</b>	<b>49</b>
<b>Tabla V.</b>	<b>Información general de los Primers empleados en la segunda amplificación para la identificación cualitativa del VHC.</b>	<b>50</b>
<b>Tabla VI.</b>	<b>Programa de amplificación aplicado en la PCR ANIDADA para la determinación cualitativa del Virus de la Hepatitis C.</b>	<b>51</b>
<b>Tabla VII.</b>	<b>Características principales de los oligonucleótidos empleados en la determinación de los polimorfismos del gen que codifica para CCR5 y el gen que codifica para la Apolipoproteína E.</b>	<b>54</b>
<b>Tabla VIII.</b>	<b>Programa para la amplificación del gen que codifica para la Apolipoproteína E.</b>	<b>55</b>

<b>Tabla IX.</b>	<b>Programa para la amplificación del fragmento del gen que codifica para el correceptor CCR5 y que permite identificar el WT y la mutación <math>\Delta 32</math>.</b>	<b>57</b>
<b>Tabla X.</b>	<b>Número de sujetos que integran cada grupo de estudio.</b>	<b>60</b>
<b>Tabla XI.</b>	<b>Características de sexo y edad de los sujetos que integran cada grupo de estudio.</b>	<b>61</b>
<b>Tabla XII.</b>	<b>Parámetros bioquímicos y virológicos del grupo de estudio y del grupo control.</b>	<b>68</b>
<b>Tabla XIII.</b>	<b>Factores de riesgo de pacientes coinfectados VIH-1 + / VHC +.</b>	<b>71</b>
<b>Tabla XIV.</b>	<b>Tamaño de los fragmentos de restricción con enzima <i>Hha</i> I esperados de la digestión del producto amplificado del gen de Apo E.</b>	<b>77</b>
<b>Tabla XV.</b>	<b>Frecuencia de genotipos del gen que codifica para la apolipoproteína E encontrada en los diferentes grupo de estudio.</b>	<b>78</b>
<b>Tabla XVI.</b>	<b>Frecuencia de genotipos del gen que codifica para la Apolipoproteína E en el grupo de estudio y grupos control.</b>	<b>79</b>
<b>Tabla XVII.</b>	<b>Frecuencia de genotipos del gen que codifica para la Apolipoproteína E en el grupo de VIH-1+ y el grupo control.</b>	<b>81</b>
<b>Tabla XVIII.</b>	<b>Frecuencia de genotipos del gen que codifica para la Apolipoproteína E en el grupo de estudio VHC + y el grupo control.</b>	<b>82</b>
<b>Tabla XIX.</b>	<b>Frecuencia de genotipos del gen que codifica para la Apolipoproteína E en el grupo de sujetos VIH-1 + / VHC + y el grupo control.</b>	<b>82</b>
<b>Tabla XX.</b>	<b>Factores de riesgo encontrados en el grupo de pacientes VIH-1 positivos.</b>	<b>83</b>

<b>Tabla XXI.</b>	<b>Características generales y factores de riesgo para la adquisición de infección por VIH-1.</b>	<b>84</b>
<b>Tabla XXII.</b>	<b>Características generales y factores de riesgo para la adquisición de infección por VIH-1 en pacientes coinfectados VIH-1 + / VHC +.</b>	<b>85</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b>	<b>Prevalencia global de la infección por VIH-1/SIDA de acuerdo con la OMS. Hasta diciembre de 2004.</b>	<b>4</b>
<b>Figura 2.</b>	<b>Prevalencia global de la infección crónica por VHC de acuerdo con la OMS. Hasta diciembre de 2003.</b>	<b>8</b>
<b>Figura 3.</b>	<b>Partícula del VIH-1.</b>	<b>14</b>
<b>Figura 4.</b>	<b>Esquema del genoma del VIH-1 y procesamiento de las proteínas virales.</b>	<b>16</b>
<b>Figura 5.</b>	<b>Partícula del VHC.</b>	<b>17</b>
<b>Figura 6.</b>	<b>Esquema del genoma del VHC y procesamiento de las proteínas virales.</b>	<b>19</b>
<b>Figura 7.</b>	<b>Esquema del anclaje y fijación del VIH-1 a la célula blanco.</b>	<b>26</b>
<b>Figura 8.</b>	<b>Esquema de la interacción de los receptores de la membrana celular y el VIH-1: A. Reconocimiento, fijación, anclaje y fusión del virus con la membrana celular. B. Competencia de quimioquinas con el VIH-1 por el correceptor CCR5. C. Expresión defectuosa del correceptor CCR5 que evita la fijación del VIH-1 a la membrana celular.</b>	<b>26</b>
<b>Figura 9.</b>	<b>Mecanismo propuesto de asociación del VIH-con la célula.</b>	<b>27</b>



	<b>Página</b>
<b>Figura 10.</b> Esquema simplificado del proceso que se siguió en la realización del presente proyecto.	<b>42</b>
<b>Figura 11.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según el sexo.	<b>62</b>
<b>Figura 12.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según la edad.	<b>62</b>
<b>Figura 13.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su lugar de origen.	<b>63</b>
<b>Figura 14.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su lugar de residencia.	<b>63</b>
<b>Figura 15.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su estado civil.	<b>64</b>
<b>Figura 16.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1+ según su grado escolar.	<b>64</b>
<b>Figura 17.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su ocupación.	<b>65</b>
<b>Figura 18.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su orientación sexual.	<b>65</b>
<b>Figura 19.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según el número de parejas sexuales que han tenido.	<b>66</b>
<b>Figura 20.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según otras enfermedades de transmisión sexual que han padecido.	<b>66</b>
<b>Figura 21.</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su carga viral (copias/ml).	<b>67</b>
<b>Figura 22</b> Distribución porcentual de los pacientes VIH-1 + según su cuenta de células CD4.	<b>67</b>

		<b>Página</b>
<b>Figura 23</b>	<b>Electroforesis de productos amplificados para la identificación cualitativa de VHC.</b>	<b>69</b>
<b>Figura 24</b>	<b>Distribución porcentual de pacientes con monoinfección por VIH-1 y pacientes coinfectados con VIH-1/VHC.</b>	<b>70</b>
<b>Figura 25</b>	<b>Electroforesis de ADN extraído de muestras de pacientes.</b>	<b>72</b>
<b>Figura 26</b>	<b>Electroforesis de productos de amplificación del gen que codifica para el coreceptor CCR5.</b>	<b>73</b>
<b>Figura 27</b>	<b>Frecuencia de genotipos de CCR5 en el grupo de estudio y grupos control.</b>	<b>74</b>
<b>Figura 28</b>	<b>Electroforesis de productos de amplificación del gen que codifica para la Apolipoproteína E.</b>	<b>75</b>
<b>Figura 29</b>	<b>Electroforesis de la digestión de productos de amplificación del gen que codifica para la Apolipoproteína E.</b>	<b>76</b>
<b>Figura 30</b>	<b>Asociación de los polimorfismos del gen del coreceptor ccr5 con la presencia de infección por el VIH-1 y/o por VHC.</b>	<b>80</b>