



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

“Reposicionamiento *in silico* de fármacos contra la proteasa del VIH”

Tesis para obtener el título de

LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

Presenta:

Sarai De León Carpinteyro

Director de tesis:

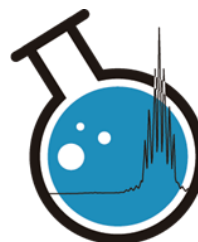
D en C Alan Carrasco Carballo

Codirector de tesis:

Dr. Victorino Gilberto Serafín Alatraste Bueno



Facultad de Ciencias Químicas BUAP



Febrero 2023

LESQO

Laboratorio de Elucidación y Síntesis
en Química Orgánica



El presente trabajo fue desarrollado en el área de reposicionamiento de fármacos del Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química, bajo la dirección del Dr. Alan Carrasco Carballo y Codirección del Dr. Victorino Gilberto Serafín Alatraste Bueno.



OFICIO C.Q./CT 004A/2023

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Sarai De León Carpinteyro

realizada en el área de Química Orgánica, comunican a Usted la autorización para la publicación del Trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Alan Carrasco Carballo y el Dr. Victorino G. S. Alatraste Bueno, con el siguiente título:

“Reposicionamiento in silico de fármacos contra la proteasa del VIH”

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 18 de enero de 2023.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., a 18 de enero de 2023

Dra. Penélope Montiel Merino, Presidente

M. C. Félix Luna Morales, Secretario

Dra. María Laura Asunción Orea Flores, Vocal

C.c.p. Archivo

Cadena digital: 6Gs&Pf#La.Xl,Im*Vw,Pp"Me(Vr.Rd%Wn)Gf+Ms/Wj!Bh+Za*Gw)Vf)Up\$Mh-Vq\$Hx*Pt+Cd!Yg.Ho%XI,Bi.Ab\$Ri!Eo&Gj\$Cc/Gq)Lp/Um.Np(Ra*Vg#Vr(Xe,Cv#Gh+Mb+Sc*Ns.Vo%Mq,Jf)Bn!Tu#Zw#Bj"Cf#Rl)Oj/Gs+Uh!Zc+Yf"Lr"Vj&Sz+Ck.Nc&Hc"Or)Yf#Qk%Hk%Rh&Sd.Wi%Vs,Di,Sy+Mi\$Mb\$Yf/Nx'Wd(Al!Ly*Lf-Yf+Fg]Sc#Ga)Ab"Vq(Fy+De)

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390

DEDICATORIA

A Dios

Por guiarme a lo largo de mi vida, en especial por sostenerme en la adversidad, a Él le debo todo.

A mis Padres

Por su ejemplo de amor y perseverancia, su apoyo en todas las decisiones de mi vida y la protección que me brindaron. Los amo demasiado.

A Alfredo

Quien ha sido mi compañero a lo largo de todos estos años, te agradezco tu amor incondicional.

A mi familia que amo

A mis abuelos que fueron como mis padres. tía Ana, tía Edith, tía Lolita, sus consejos los llevo en mi mente, a mi hermano y primos por esos años de travesuras, gracias.

A Josefina Vázquez

Siempre la voy a tener en mi mente y corazón, rememoro las pláticas que teníamos, la extraño demasiado.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer al D en C Alan Carrasco Carballo, director de esta tesis, por darme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto, además de su ayuda y consejos.

Asimismo, agradezco al Dr. Victorino Gilberto Serafín Alatraste Bueno, codirector de esta tesis, por las revisiones y correcciones.

Al laboratorio de elucidación y síntesis orgánica LESQO, quienes me brindaron las herramientas necesarias para el desarrollo de esta tesis.

A mi comisión revisora, la Dra. Penélope Montiel Merino, al M. C. Félix Luna Morales y a la Dra. María Laura Asunción Orea Flores, por tomarse el tiempo y la dedicación de leer dicho trabajo, dando su punto de vista y con esto corregir los errores señalados.

Índice

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
RESUMEN	4
ANTECEDENTES	5
1.1 HISTORIA.....	5
1.2 CLASIFICACIÓN.....	7
1.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	8
1.4 ESTRUCTURA VIRAL.....	9
1.5 REPLICACIÓN.....	10
1.5.1 Entrada.....	¡Error! Marcador no definido.
1.5.2. Síntesis de DNA proviral.....	11
1.5.3. Integración.....	12
1.5.4. Expresión y transporte de RNA.....	12
1.5.5. Ensamblaje, egreso y maduración	12
1.6 PATOGENIA	12
A. Infección aguda primaria	13
B. Fase crónica de la infección.....	13
C. Fase avanzada: SIDA.....	13
1.7 TRANSMISIÓN.....	14
A. Vía sexual	14
B. Vía sanguínea.....	14
C. Vía materno-infantil.....	14
1.8. TRATAMIENTO	14
1.9 INDICACIONES PARA EL TRATAMIENTO	15
1.9.1. Inhibidores de Transcriptasa inversa de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN)	17
1.9.2 Inhibidores de Transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINN).....	17
1.9.3 Inhibidores de la integrasa (INI).....	17
1.9.4. Inhibidores de la proteasa (IP).....	17
1.9.5 Otros fármacos antirretrovirales	18
Inhibidores de correceptores CCR5.....	18

Inhibidores de la fusión (IF)	18
1.10 SWITCH de ARV	19
1.11 TOXICIDAD DE LOS ARV	19
1.11.1 Función renal en la terapia ARV	19
1.11.2 Función hepática en la terapia con ARVS	20
1.11.3 Perfil metabólico y ARVS	20
1.12 RESISTENCIA A LOS ARV	20
1.13 FARMACORESISTENCIA DEL VIH.....	21
LA VACUNA CONTRA EL VIH.....	22
1.14 IMPORTANCIA DE LA TAR.....	23
1.15 HISTORIA DE LOS INHIBIDORES DE PROTEASA VIRAL.....	23
1.15.1 ¿Qué son las proteasas?	24
1.16 PROTEASA DE VIH.....	26
1.16.1 Estructura.....	26
1.16.2 Mecanismo de acción de proteasa en el VIH	27
1.16.3. Mecanismo de acción de inhibidores de proteasa de VIH.....	29
1.16.4 Fármacos inhibidores de la proteasa viral empleados en el TAR.....	30
1.16.6 Ventajas y desventajas en el inicio del TAR	32
OBJETIVOS	37
Objetivo general	37
Objetivos particulares	37
METODOLOGÍA.....	38
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	40
Código PDB: 3EKW	45
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ARV: Antirretroviral

ARVS: Antirretrovirales

ATZ: Atazanavir

CCR5: Receptor de quimiocinas tipo 5

CENSIDA: Centro Nacional para la Prevención y Control del VIH/sida

DRV: Darunavir

FDA: Food and Drug Administration

FRVIH: Farmacorresistencia del virus de inmunodeficiencia humana

HIVpr: Proteasa de VIH

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social

INI: Inhibidor de la integrasa

IP/p: Inhibidores de la proteasa potenciados

IP: Inhibidor de la proteasa

ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa/reversa análogo de los nucleósidos

ITINN: Inhibidores de la transcriptasa inversa/reversa no análogo de los nucleósidos

ITNI: Inhibidor de la transcriptasa inversa

LPV: Lopinavir

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONUSIDA: Programa conjunto de las Naciones Unidas del VIH/SIDA

RTV: Ritonavir

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SQV: Saquinavir

TAR: Tratamiento antirretroviral

TARGA: Terapia antirretroviral de gran activa

VIH-1: Virus de inmunodeficiencia humana clase 1

VIH-2: Virus de inmunodeficiencia humana clase 2

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de una proteasa, su centro activo y las interacciones entre residuos y pliegues[22].	25
Figura 2. Estructura proteica de la HIVpr[22].	27
Figura 3. Esquema donde el virión maduro sale para liberar la proteasa e infectar más células[24].	28
Figura 4. Mecanismo de acción de HIVpr[22].	28
Figura 5. Uso de fármacos IP que evitan la maduración del virión[24].	30
Figura 6. Estructura de fármacos IP de primera generación[25].	31
Figura 7. Estructuras de fármacos IP de segunda generación[25].	31
Figura 8. Representación estructural, con interacciones intermoleculares de Darunavir y la proteína.	46
Figura 9. Representación estructural, con interacciones intermoleculares de Saquinavir y la proteína.	46

RESUMEN

El VIH/SIDA ha sido desde hace décadas una de las enfermedades más letales de todos los tiempos, se caracteriza por una gran facilidad de adaptación genética y por ende disminuir la respuesta inmunitaria del cuerpo, esto ha limitado los tratamientos para los pacientes que están infectados con este virus, así como la aceleración de contagios que se tiene cada año a nivel mundial lo cual ha despertado la preocupación de organizaciones internacionales de la salud, las cuales buscan tratamiento antirretroviral efectivos que ayuden al paciente con VIH a tener una mejor calidad de vida. Otro objetivo es desarrollar una vacuna para erradicar la enfermedad.

Existen diferentes métodos de estudio sobre los fármacos antirretrovirales; *in vitro*, *in vivo* e *in silico*. En el presente trabajo se realizó un estudio *in silico* iniciando con 4486 moléculas con posible efecto inhibidor de la proteasa, partiendo de esto se tomó en cuenta filtros con datos obtenidos de la plataforma Drugbank, quedando 2664 moléculas que interaccionan con la proteína proteasa del VIH y con filtros energéticos comparando con fármacos comerciales que inhiben la enzima. Se compararon las moléculas contra 5 fármacos de referencia que pertenecen a diferentes familias del antirretrovirales usados para el VIH. Al final se aplicaron los criterios de Ghose y Lipinsky, también la disponibilidad de los fármacos en instituciones de salud pública y su aprobación por la FDA. Finalmente, encontramos 5 fármacos que cumplen con estas características para proceder a la selección de nuevas alternativas terapéuticas que actúan inhibiendo a la proteasa.

ANTECEDENTES

La inmunodeficiencia asociada al VIH es una enfermedad que se caracteriza por una drástica disminución en el sistema inmune lo que provoca un aumento en el riesgo de contraer enfermedades sistémicas que pueden empeorar la calidad de vida de los pacientes. En la actualidad, un paciente con VIH puede llevar una vida larga y saludable con ayuda de los tratamientos antirretrovirales, sin embargo, estos han alcanzado sus limitaciones presentando resistencia hacia algunas familias de fármacos indicados para este padecimiento. Si bien existe una clasificación del virus según el origen de la especie y la virulencia de cada uno de estos, se toman en cuenta factores en los pacientes como son la edad, el sexo, y si presenta alguna comorbilidad o afección ajena a la infección por el virus. Es de suma importancia dar un tratamiento adecuado lo más pronto posible para dar una mejor calidad de vida, así como retrasar el síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA).

1.1 HISTORIA

El VIH-1 es un retrovirus que causa una infección crónica el cual se transmite por las células, el plasma de la sangre y el contacto sexual. Según el análisis del reloj molecular, el VIH-1 con sus 4 grupos había estado presente los humanos africanos alrededor de 1890-1930 y en los chimpancés antes de 1460. Es un virus recombinante de mono, SIVcpz, transmitido por el chimpancé (*Pan troglodytes troglodytes*) y el VIH-2 es un virus transmitido por el mono (*Cercopithecus atys*)[1].

Los primeros trabajos vinculados al SIDA se dieron a conocer en 1983 con un retrovirus de características similares al virus HTLV (virus linfotrópico T humano). Fue Barré- Sinoussi quien aisló el virus en Francia en un paciente con SIDA se le denominó LAV (*Lymphadaenopathy associated virus*) en Estados Unidos se aisló por Gallo y colaboradores así fue como se designó HTLV-III al ser similar con los retrovirus linfotrópicos humanos. La secuencia de nucleótidos demostró, años más tarde, que estos dos aislamientos correspondían al mismo virus. Mientras que en el año de 1986 se designó dicho virus con las siglas VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) al virus involucrado en el desarrollo del SIDA (Síndrome de inmunodeficiencia adquirida). Desde ese año la infección por VIH y SIDA se ha convertido en solo uno de los tantos problemas sanitarios más graves presentes en la humanidad desde el siglo XX [2].

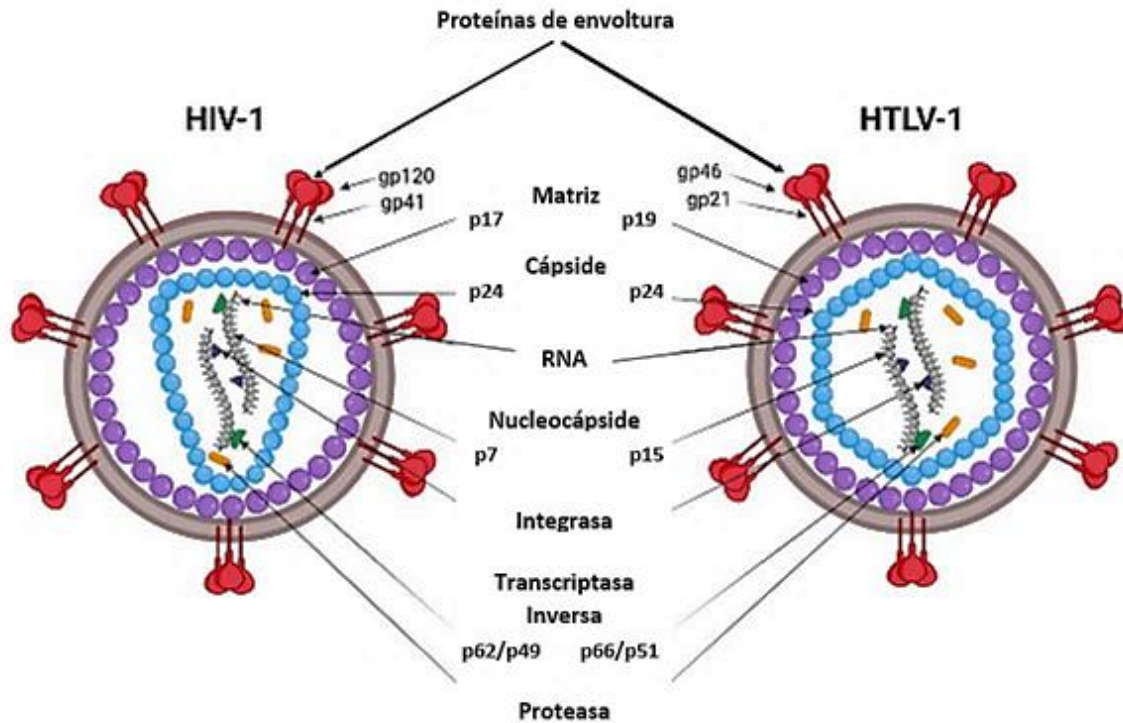


Figura 1. Esquema de los viriones de VIH-1 y HTLV-1 con subunidades y proteínas estructurales/no estructurales [3].

A la fecha de hoy sólo dos retrovirus, el VIH y el HTLV-1 han sido reconocidos como patógenos para el ser humano. Ambos virus infectan principalmente a los linfocitos CD4+. La replicación del VIH induce apoptosis a dicha célula del sistema inmune, al haber una disminución de estas células de defensa se desarrolla el SIDA. Después de un largo periodo de latencia clínica, HTLV-1 puede transformar los linfocitos, derivándose en una descontrolada proliferación y la manifestación de leucemia[3].

Con los años comenzaron a surgir variantes del VIH proviniendo de diferentes especies de chimpancés, así mismo se comenzó a indagar los vectores y la forma de transmisión del virus hacia los seres humanos, por lo que se tenían teorías acerca de sus inicios al propagarse por el mundo.

En 1970 la epidemia de VIH-1 en USA fue precedida por una epidemia en el Caribe en 1963 y se discutió que un paciente al cual se le llamó paciente cero había desencadenado la epidemia de SIDA. Teniendo en cuenta la distribución mundial y la propagación del VIH con sus 2 tipos, 11 grupos y más de 25 subtipos[4].

1.2 CLASIFICACIÓN

En 1983, ocurrió la muerte de varios primates a causa de una rara enfermedad, a causa de una inmunosupresión dando bajas cuantificaciones de linfocitos T CD4 y se asociaba un síntoma en común que era diarrea, también la presencia de enfermedades oportunistas causadas por bacterias, hongos u otros virus lo que llevo a la identificación de un nuevo retrovirus presente en la sangre de los monos, este no producía enfermedad en monos provenientes de África. Se identificó la presencia de anticuerpos contra el virus recién aislado en monos africanos cautivos, pero ese virus reaccionaba muy débil ante los anticuerpos del VIH, lo que significaba que era un retrovirus con nuevas características aislado de monos asiáticos, se encontraba en monos africanos sin enfermarnos, sin embargo, era diferente al VIH. Nombrado virus de la inmunodeficiencia en simios (VIS) [4].

El lentivirus VIH-1 es más virulento que el lentivirus VIH-2, estos dos son genéticamente diversos, se introdujeron por variadas transmisiones entre especies de VIS, y no de humanos a humanos como se creía. Estas diferentes transmisiones virales zoonóticas dieron lugar a grupos de VIH-1 principal (M), valor atípico (O), Ninguna (no M, no O) y recientemente se ha adicionado el grupo P[5]. El origen del VIH-1 ha sido documentado alrededor de Kinshasa en la actual República Democráticas del Congo alrededor de la década de 1920 desde donde se propagó a lo largo de una red de transporte a otras áreas en África subsahariana, África occidental, Europa y el resto del mundo. Esta propagación a nivel mundial estuvo marcada por una distribución geográfica de varios virus genéticamente distintos. Por ejemplo, el subtipo B prevaleció en casi todas las partes de Europa y América. Los virus del grupo M han dominado la pandemia mundial del VIH desde su inicio, otros virus de los grupos N, O, y P no se han diseminado ampliamente [5].

Tipo	Grupo	Subtipos	Distribución
HIV-1	M	A-K	Universal y endémicos en África
	O		Camerún Gabón Congo Guinea ecuatorial
	N		Camerún
HIV-2		A-F	Todos endémicos en África

Tabla 1. Grupos, subtipos y distribución del virus de VIH tipo 1 y 2[5].

1.3 EPIDEMIOLOGÍA

A nivel mundial, en el año 2020 se reportan 30.2-45.1 millones con VIH, de población 36.0 millones fueron adultos y 1.7 millones fueron niños en un rango de 0-14 años. En el 2020 se estimaron 1.5 millones (1.0–2.0 millones) de infecciones recientes por VIH, lo que significa una reducción de 52% si nos guiamos de estadísticas del año 1997 (dónde hubo mayor número de nuevas infecciones). Durante el periodo 2010-2020, las nuevas infecciones por el VIH descendieron 31%, al pasar de 2.1 millones (1.5–2.9 millones) a 1.5 millones (1.0–2.0 millones) en 2020[6].

Se reporto en 1983 el primer caso de SIDA en México, de acuerdo con datos de Censida, en el año 2019 se reportaron 301 mil 182 personas con infección por VIH. A nivel nacional esta enfermedad cuesta miles de pesos al año en cuanto a los tratamientos antirretrovirales (TAR) que se les da por parte de instituciones gubernamentales para aquellas personas que no cuenten con las posibilidades económicas de solventar sus gastos médicos. Se han reportado en el registro de vigilancia epidemiológica 328 mil 791 personas con infección por VIH, que entre 1983-2021, 201 mil 439 personas estaban vivas (61.3%), 111 mil 229 fallecidas (33.8%) y 16,123 es incierto (4.9%) [6]. Para el año 2021 se dio informe para el tercer trimestre del año con los siguientes datos reportados a nivel nacional [7].

Grupo de Edad	Hombres		Mujeres		Total	
	Casos	%	Casos	%	Casos	%
< de 1	684	51.3	649	48.7	1,333	0.4
1 - 4	1,149	51.8	1,071	48.2	2,220	0.7
5 - 9	577	51.4	546	48.6	1,123	0.3
10 - 14	396	54.4	332	45.6	728	0.2
15 - 19	7,266	70.3	3,073	29.7	10,339	3.2
20 - 24	36,877	81.1	8,614	18.9	45,491	13.9
25 - 29	54,903	83.9	10,547	16.1	65,450	20.0
30 - 34	50,478	83.3	10,123	16.7	60,601	18.5
35 - 39	38,982	82.5	8,248	17.5	47,230	14.4
40 - 44	27,978	81.7	6,285	18.3	34,263	10.5
45 - 49	18,786	80.7	4,500	19.3	23,286	7.1
50 - 54	11,946	79.9	3,014	20.1	14,960	4.6
55 - 59	7,258	79.4	1,885	20.6	9,143	2.8
60 - 64	4,110	80.1	1,018	19.9	5,128	1.6
65 y +	3,948	83.3	794	16.7	4,742	1.4
Ignorado	1,047	85.6	176	14.4	1,223	0.4
Total	266,385	81.4	60,875	18.6	327,260	100.0

Tabla 2. Distribución de los casos VIH considerando edad y sexo. México, 1983-2021 [7].

De acuerdo con la tipología de ONUSIDA, México tiene una epidemia concentrada, en la que existen poblaciones que se encuentran afectadas por la epidemia: hombres que tienen relaciones sexuales con otros hombres, hombres que ejercen el trabajo sexual, mujeres identificadas como transexuales, personas que se drogan usando jeringas y personas privadas de la libertad [6]. Para diciembre de 2020, se estimó que, en México tenía una prevalencia de virus de inmunodeficiencia humana (0.4%) a finales de ese año [6]. La siguiente tabla muestra un resumen de los datos recolectados en todos estos años desde 1983, donde muestra casos positivos dados de alta en el sistema de salud de México, personas fallecidas a causa de enfermedades oportunistas, así como la proporción de casos positivos entre hombres y mujeres.

	TOTAL
Casos de VIH notificados (1983-2021**)	327,260
	VIH
Casos notificados de VIH que se encuentran vivos según estado de evolución registrado	199,960
Casos nuevos diagnosticados de VIH notificados en 2020*	9,881
Casos nuevos diagnosticados de VIH notificados en 2021**	10,500
Proporción de casos VIH en hombres, según casos diagnosticados en 2021**	86.02
Defunciones por VIH 2019***	5,281
Tasa de mortalidad 2019*** por 100 mil habitantes	4.19

Tabla 3. Resumen de información de vigilancia epidemiológica de casos de sida. 19 de octubre de 2021[7].

1.4 ESTRUCTURA VIRAL

El VIH-1 tienen un genoma compuesto por dos RNA positivos y 9,8 kilobases (Kb). Dentro de su organización genómica se encuentran 9 genes, 3 que se encuentran comúnmente en estos. Es el gen gag que codifica la cápside viral, pol genera la transcriptasa inversa, la proteasa y la integrasa y finalmente env se encarga envoltura [2].

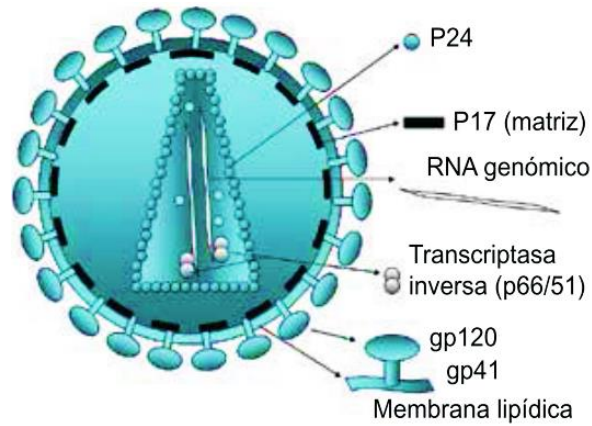


Figura 2. Esquema del HIV-1 [2].

1.5 REPLICACIÓN

Una vez que el virus se pone en contacto con mucosas o plasma no infectado, comienza la infección. Si el contacto se da directamente en sangre, se da la diseminación del virus por el torrente sanguíneo, aquí es capaz de infectar células del sistema inmune como macrófagos/monocitos y linfocitos CD4⁺ presentes en este sistema [8]. El ciclo de vida del VIH se lleva a cabo en 5 pasos; enlace y penetración, transcripción inversa, integración, expresión y transporte de RNA viral, por último, la maduración [2].

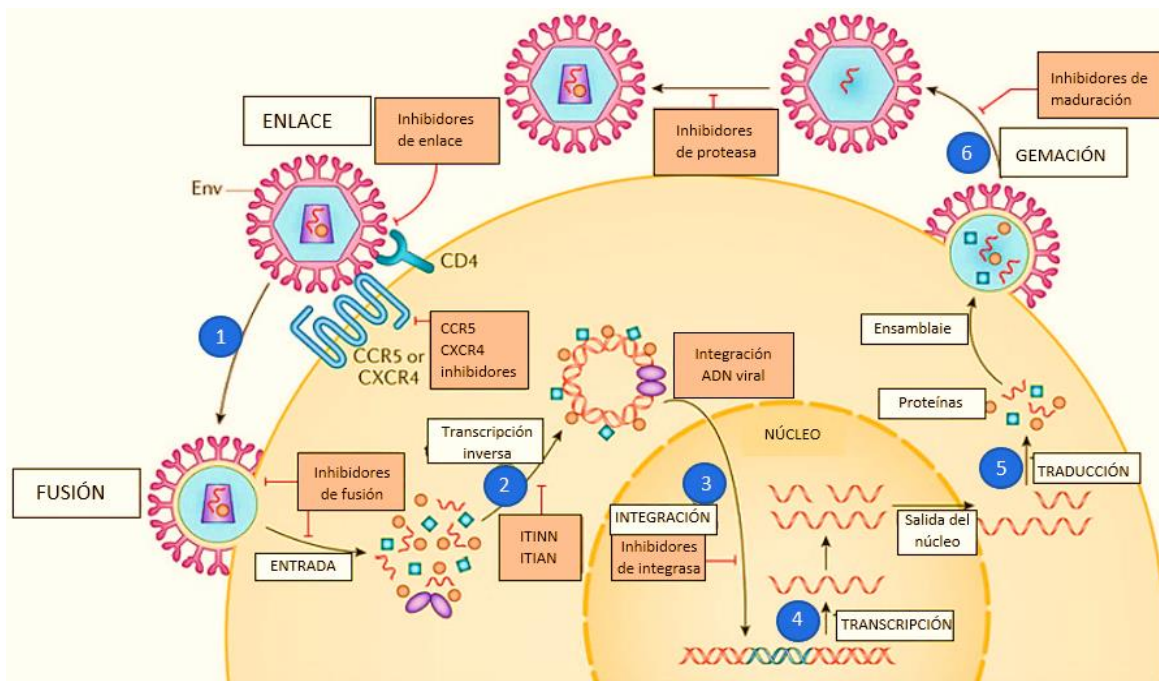


Figura 3. Ciclo replicativo del VIH inmaduro[8].

1.5.1 Ingreso al huésped

La entrada del HIV a las células huésped se genera por los linfocitos CD4, esto por interacciones con una elevada afinidad respecto a glicoproteínas gp120. El receptor CD4 se encuentra en abundancia en linfocitos T inmaduros y linfocitos T ayudadores (helper), a comparación de otras células del sistema inmunológico pero que tienen menor concentración en la superficie son los monocitos, macrófagos y células dendríticas presentadoras de antígeno.

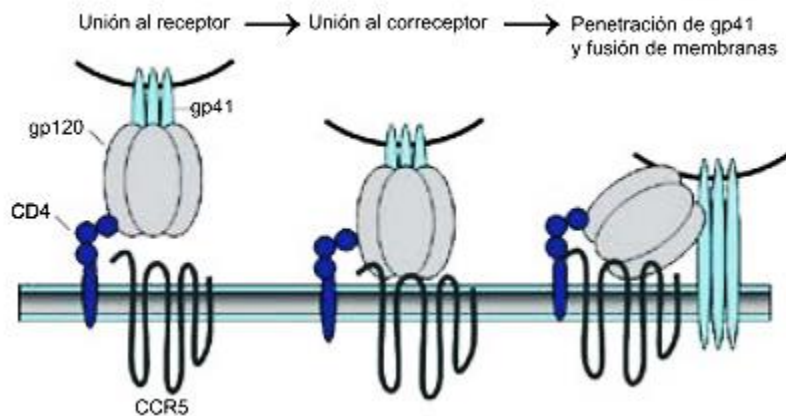


Figura 4. Esquema que representa interacciones entre las glicoproteínas de envoltura del VIH-1, los receptores y correceptores celulares[2].

En el proceso de fusión de membranas se presenta la unión virus-célula, interviene la gp41 una glicoproteína de envoltura y CXCR4-CCR5 (receptores para quimioquinas), este último es correceptor. Una vez que gp120 interactúa con la molécula del linfocito CD4 y algún correceptor, ocurren cambios conformacionales que permiten a la gp41 estar expuesta a la membrana de la célula y perforarla. Como resultado de la fusión, el virus ingresa al citoplasma y luego libera el genoma[2].

1.5.2 Síntesis de DNA proviral

La transcripción ocurre una vez que el RNA del virus entra a la célula huésped, esto ocurre en el citoplasma, la enzima transcriptasa inversa tiene al menos tres funciones; polimerasa de ADN el cual depende del ARN, polimerasa de ADN dependiente de ADN y ribonucleasas (RNAsa H). Esto nos da como productos finales moléculas de ADN de doble cadena más largas en cada extremo que el RNA viral. [2].

1.5.3. Integración

Una vez dada la transcripción el ADN proviral de doble cadena es transportado al núcleo celular, donde se integra al ADN cromosómico. Esta reacción enzimática de integración es catalizada por la integrasa del virus que se relaciona con el complejo nucleoproteína, esta corta dos nucleótidos del extremo 3' proviral y posteriormente cliva el ADN de la célula huésped [2].

1.5.4. Expresión y transporte de RNA

La transcripción viral se da por una serie de mecanismos que involucra factores virales y celulares. El transcripto de RNA de VIH-1 comienza en R y sigue por TAR interactuando con la transactivadora TAR y ciclina T1. Los transcriptos primarios de RNA sintetizados en el provirus (enzima RNA polimerasa II) constituyendo los mensajeros para la síntesis de poliproteínas virales que serán incorporados en los viriones nuevos [2].

1.5.5. Ensamblaje, egreso y maduración

El ensamblaje es parte de la última etapa en la maduración del virión inmaduro para poder infectar otras células huésped del individuo, en este se incorpora y glucosila las proteínas de envoltura. Varias proteínas del virus permiten mejorar el procedimiento de ensamblaje y liberación viral [2].

Al tener formado el citoplasma del pre-virión sin membrana fosfolipídica; se dirigirá hacia la membrana de la célula huésped saldrá llevándose esa región de la membrana, donde actuarán las proteínas de la envoltura. La *proteasa* realiza el corte en *gag*, generando p24, de la cápside [8].

La liberación de las partículas virales maduras se produce rápidamente provocando lisis celular, o en forma más lenta manteniendo la integridad de la célula. Al igual que otros retrovirus, la maduración de la partícula viral ensamblada ocurre una vez liberada esto por la proteasa viral [2, 8].

1.6 PATOGENIA

La enfermedad por VIH se divide en tres fases en las que el individuo cursa presentando diversos síntomas y signos, esto dependiendo también del tratamiento antirretroviral (TAR) que se le dé, lo cual debe ser lo más pronto posible para poder minimizar en primer lugar el

título viral o la cantidad de células víricas presentes en el sistema del huésped, así como darle la mejor calidad de vida al paciente. [2] A pesar de que el lapso de la infección por el VIH-1 tiene una gran variación interindividual, lo que engloba lapsos de meses o más de diez años, el desarrollo clínico de la infección se divide en:

- A. Infección aguda primaria
- B. Fase crónica de la infección
- C. Fase avanzada: SIDA

A. Infección aguda primaria

Este periodo abarca de 4-8 semanas, y en él se encuentran otras dos etapas. La primera corresponde a la propagación viral, lo cual ocurre de 2-4 semanas con cargas virales elevadas, termina con un gran pico de virus en sangre, esto significa una máxima replicación viral. La segunda etapa corresponde al despeje del virus en sangre y ocurre alrededor de la etapa de seroconversión, aquí se hay reducción de la carga viral hasta llegar a un punto estable, sin embargo, esto es variable de un individuo a otro [2].

En la segunda fase los pacientes tienen síntomas como, dolor de cabeza, fiebre y erupciones en la piel. Después de varios días o semanas los síntomas cesan de manera espontánea, dando pie a la fase 2 [9].

B. Fase crónica de la infección

Se comienza un período de latencia clínica cuando el paciente es seropositivo, se considera al paciente como asintomático, si no se le da el tratamiento adecuado puede verse seriamente afectado su sistema inmune, lo que se desencadena en el desarrollo de SIDA la cual es la última fase de la enfermedad, el tiempo entre 1 a 15 años. Al estar en este periodo el paciente no presenta los síntomas y signos típicos por lo que es fácil que se propague el virus de un individuo seropositivo a uno no infectado. Se considera como un predictor importante la carga viral en el desarrollo de la infección, particularmente en etapas tempranas [2].

C. Fase avanzada: SIDA

Esta es la etapa final de toda la enfermedad. El sistema inmune ha sido debilitado, el cuerpo esta indefenso ante agentes oportunistas. El diagnóstico para una persona con SIDA se da

cuando hay recuentos de linfocitos inferiores a $200/\text{mm}^3$ y/o más infecciones oportunistas difíciles de erradicar [9].

1.9 TRANSMISIÓN

La transmisión se puede dar cuando el virus alcanza torrente sanguíneo de otra persona a través de heridas atravesando la barrera de la piel, cuando un fluido como sangre, semen, secreción vaginal o leche materna entra en contacto directo con mucosas corporales(vaginal, anal, conjuntival, oral) inclusive al no tener heridas, es así como las vías de transmisión más usuales son [9]:

- A. Vía sexual
- B. Vía sanguínea
- C. Vía materno-infantil

A. Vía sexual

Se da esta vía de transmisión al sostener relaciones sexuales sin uso de preservativo con una persona infectada con VIH y en la cual hay penetración (anal, vaginal u oral). Un aumento en la transmisión se eleva cuando hay presentes infecciones de transmisión sexual (ITS) ya que estas causan úlceras o heridas que hacen más fácil la entrada del virus por medio de mucosas corporales[9].

B. Vía sanguínea

La transmisión se produce al compartir objetos punzocortantes como: agujas y jeringas, cuchillas de afeitar, cepillos de dientes que tuvieron contacto con algún fluido [9].

C. Vía materno-infantil

Una mujer embarazada infectada de VIH puede transmitir el virus a su hijo durante el periodo de gestación, el parto o la lactancia, esto se da por medio del cordón umbilical y el feto. Esto ocurre en 1 de cada 5 embarazadas infectadas de VIH y que no reciben un tratamiento oportuno [9].

1.8. TRATAMIENTO

El tratamiento se le debe proponer a todas las personas infectadas después de haber sido diagnosticadas por medio de estudios de laboratorio. Es de suma importancia que el paciente

tenga pleno convencimiento del porqué del tratamiento, debido a que actualmente el tratamiento es variable para todos los pacientes y se considera su carga viral, sexo y edad [9].

Al 30 de junio del 2021, existen cerca de 205 mil personas con tratamiento antirretroviral (TAR) en México, en todas las instituciones del sector salud.[6]. Para el éxito del tratamiento se debe ser constante en este mismo. El incumplimiento o tratamientos a medias favorece la progresión de la infección y la disminución de los linfocitos CD4. Esto eleva el riesgo de resistencia a los fármacos antirretrovirales, disminuyendo las opciones de encontrar un tratamiento eficaz.[9] Desde 1996, se ha usado el TARGA, consiste en dos inhibidores de la transcriptasa inversa (ITINN/ITIAN), además de un inhibidor de la proteasa (IP). Estos regímenes produjeron una supresión favorable en la replicación del VIH en el cuerpo, con niveles indetectables de ARN del virus, en más de 50% de los pacientes en esquema de TAR. La inmunidad se recuperó con una disminución del 80%. Se pensaba que el tratamiento fue particularmente efectivo cuando se empezaba de forma temprana; por lo tanto, el TARGA se recomendaba a todas las personas infectadas de VIH dispuestas a comprometerse a una terapia de por vida [10].

1.9 INDICACIONES PARA EL TRATAMIENTO

La cuantificación de CD4 de los pacientes nos indica el grado clínico en la infección y predice el riesgo a corto plazo de enfermedades oportunistas. Hay que considerar que, sin tratamiento, el riesgo es menor a 1% por año cuando el conteo de CD4 está por arriba de $500/\text{mm}^3$, pero se eleva a 30% cuando el conteo de CD4 cae por debajo de $100/\mu\text{m}^3$. A largo plazo, el pronóstico también se determina por medio de la carga viral (es decir, el número de copias de ARN de VIH por milímetro cúbico de plasma). La destrucción por parte del VIH de las células CD4 y la arquitectura de quistes linfáticos produce inmunodeficiencia progresiva. El TAR disminuye la replicación viral, evita la destrucción del sistema inmune e incluso permite una reparación favorable en los pacientes que comienzan un tratamiento estando inmunosuprimidos. Se debe hacer lo posible por acortar el lapso entre el diagnóstico de la infección por el VIH y el inicio del tratamiento con fármacos antirretrovirales, teniendo en cuenta la constancia ante el tratamiento del paciente[11].

En el tratamiento siempre se debe entablar una relación de confianza entre los prestadores de salud y los pacientes seropositivos para que estos puedan afrontar y aceptar el TAR con la

mejor disposición, la decisión de aceptar o rechazar el TAR le confiere corresponde a la persona o su cuidador y, si ambos difieren su inicio, se ofrecerá en consultas siguientes de nuevo el TAR. Ahora, si la persona presenta trastornos de salud mental, trastornos relacionados al consumo de drogas, o cuando existen otros factores que puedan interferir el inicio del TAR o alterar la adhesión, se dará el apoyo adecuado evaluando periódicamente la disposición para comenzar el tratamiento. Es primordial informar a las personas o a su cuidador sobre el primer TAR que se ofrece y este da la oportunidad de disminución en el título viral, así como recuperar una gran parte de la función inmunitaria, es indispensable tomar toda la medicación según se ha prescrito por doctores para lograr los beneficios clínicos y el éxito del TAR[11].

La OMS define el apego terapéutico como la conducta que una persona tiene para tomar el medicamento, seguir una dieta o ejecutar cambios en el estilo de vida, siendo estas recomendaciones otorgadas por un profesional de la salud[12]. Los diez principios para iniciar con eficacia el TAR una vez que el paciente o su cuidador han accedido a la terapia con uso de fármacos inhibidores de alguna de las proteínas del VIH se enlistan a continuación.

1. Indicación	Infección por VIH cuando la deficiencia inmune subclínica sea evidente.
2. Combinación	El tratamiento antirretroviral con tres grupos de medicamentos.
3. Primera oportunidad= mejor oportunidad	La elección de medicamentos durante el primer curso de tratamiento determina qué posibilidades hay cuando se necesita un segundo tratamiento diferente más adelante. Las alternativas se limitan a mutantes resistente.
4. Complejidad	Por interacciones de los medicamentos y los efectos secundarios.
5. Resistencia	La resistencia cruzada es completa entre inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos disponibles y parcial entre los inhibidores de la proteasa y los inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa.
6. Información	El tratamiento antirretroviral efectivo consume tiempo, debido a que el médico y los pacientes necesitan tener mucha información.
7. Motivación y cumplimiento	La disposición del paciente para tomar sus medicamentos de forma regular en los tiempos y dosis indicados determina el éxito del tratamiento. Los pacientes deben entender la relación entre el cumplimiento insuficiente y la resistencia del medicamento.
8. Monitoreo	La eficacia del tratamiento antirretroviral se establece por medio de medidas regulares del RNA viral y los conteos de las células CD4.
9. Objetivos del tratamiento	Supresión durable del RNA viral por debajo de 50 copias por mililitro cúbico de plasma. Tal supresión minimiza la selección de mutantes resistentes y ayuda en la reconstitución inmune y la evitación de morbilidad y mortalidad.
10. Estudios	El tratamiento con agentes antirretrovirales sigue evolucionando a ser óptimos y eficaces.

Tabla 4. Diez principios para la terapia antirretroviral [10].

1.9.1. Inhibidores de Transcriptasa inversa de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN)

Los ITIAN son fármacos que inhiben la transcriptasa inversa del VIH la cual se incorporan a la cadena de DNA del virus, frenando la elongación de la misma y, como consecuencia, inhibiendo la replicación del VIH[13,14]. Basándose en su estructura molecular se clasifican en análogos de bases púricas y análogos de bases pirimidínicas[14]. Estos necesitan para activarse de fosforilaciones en el interior de la célula, en el metabolismo de los ITIAN no interviene[13].

1.9.2 Inhibidoras de Transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINN)

A diferencia de los ITIAN, los ITINN se caracterizan por ser fármacos activos, ya que tienen un mecanismo no competitivo, el cual se une directamente y reversible al sitio catalítico de la enzima por un mecanismo no competitivo, generando cambios conformacionales en dicha enzima e inhibiendo su actividad DNA polimerasa, pero, la continua aparición de resistencia ante inhibidores de transcriptasa es una de sus limitaciones. Los ITINN poseen un metabolismo hepático, por lo que intervienen diferentes isoenzimas del citocromo P450 [13,14].

1.9.3 Inhibidores de la integrasa (INI)

Como su nombre lo dice estos fármacos inhiben la actividad de la integrasa al momento de integrar el material genético viral en el ADN del linfocito CD4 [13]. Es en el sitio activo donde se usan quelantes dando como resultado un sitio activo de la enzima ocupado y con esto la integración se detiene [14].

1.9.4. Inhibidores de la proteasa (IP)

Los IP son fármacos que inhiben a la proteasa, esto impide el desarrollo de las proteínas virales, inhibiendo la replicación viral, como grupo son los fármacos con mayor barrera genética, todos los IP usados actualmente deben administrarse potenciados con otro antirretroviral (ARV) de este grupo hay unos que inhiben eficazmente el citocromo P450 por lo que presentan gran número de interacciones con otros fármacos[13]. Sin embargo la inhibición de la enzima no evita que se sinteticen los polipéptidos virales codificados por *Gag* y *Gag-pol*, pero si hace que se fragmenten haciéndolos no funcionales sin poder producir virus maduros con capacidad infectiva[14].

1.9.5 Otros fármacos antirretrovirales

Inhibidores de correceptores CCR5

El medicamento más conocido de este grupo es el Maraviroc con tropismo CCR5 detectable y actúa bloqueando la entrada del virus a los linfocitos CD4[13]. El mecanismo de acción es bloquear la entrada del VIH a las células. Es sustrato de CYP3A4, más no lo inhibe [14].

Inhibidores de la fusión (IF)

Los IF inhiben la unión de la cubierta viral del VIH con la membrana celular, evitando la penetración del virus hacia los linfocitos[13]. La capacidad frente al VIH es independiente de correceptor utilizado (CCR5) y tienen una barrera genética diferente al de los otros ARV. Su prescripción es únicamente para pacientes que presentan resistencia hacia 1 o más fármacos de otras familias, solo existe un representante de esta familia: efavirtide[14].

El apego al TAR debe ser >90% para suprimir la carga viral y mantener la eficiencia del fármaco. Sin embargo, se han encontrado múltiples factores que intervienen en el apego al tratamiento, suelen ser socioeconómicos, personales, el tratamiento, con la asistencia y efectos secundarios[12].

El TARGA y el VIH se basa en el ciclo de vida de un retrovirus y sus principales procesos vitales, lo que permite atacar directamente y puntualmente cada una de sus fases, como son la replicación del ADN viral.

Los antirretrovirales son usados en combinaciones, debido a que el virus puede mutar, de manera que se desarrolla resistencia cruzada. Esta terapia múltiple incrementa desfavorablemente el número de efectos secundarios a pesar de que desde sus inicios ha ayudado a amenguar la incidencia de la enfermedad[15].

Por lo tanto los efectos secundarios más comunes que presentan los pacientes en TAR son Náusea, cañalea, mareo, vómito, dolor en el abdomen, e insomnio.

Siempre se debe tomar en cuenta el tipo de ARV y la fase clínica del paciente ya que estos efectos son variables, y pueden aparecer efectos tóxicos[15]. Debe vigilarse el comienzo del TAR para identificar toxicidad[16].

1.10 SWITCH de ARV

El Switch o suplantación de antirretrovirales se utiliza para disminuir o eliminar efectos adversos, dado que busca evitar interacciones y simplificar el TAR, con el objetivo de mejorar la adherencia, con esto también mejora la calidad de vida de los pacientes. Normalmente se usa el switch cuando se busca evitar interacciones conocidas entre ARV y otros fármacos que deban ser utilizados por el paciente, que pueden determinar reducción en las concentraciones plasmáticas de los ARV con el consecuente fallo y resistencia o, aumento de concentraciones y mayor riesgo de toxicidad asociada a fármacos. Es una herramienta para simplificación de TAR, optimizar la adherencia y, en pocos casos, disminuir los costos relacionados con el tratamiento.

Factores que deben ser considerados cuando se realiza un switch desde un régimen supervisado. Esto es cuando hay una falla virológica previa, barrera genética variable que causa resistencia, duración de la supresión virológica y si el nivel esperado de adherencia es seguro cuando se tiene resultados óptimos. Normalmente para realizar esta técnica se lleva a cabo mediante la disminución en la dosis diaria, sustituyendo los fármacos dentro de la misma familia o sustituyéndolos por una por otra [17].

1.11 TOXICIDAD DE LOS ARV

Se recomienda un seguimiento en cuanto a la toxicidad y en el tratamiento antirretroviral con pruebas de laboratorio. Así se debe monitorear frecuentemente los niveles de viremia en sangre. Se necesita investigar más acerca de métodos de farmacovigilancia basados en los síntomas que permiten optimizar la terapéutica. En general, al interrumpirse un tratamiento se debe en caos donde se presente toxicidad, hipersensibilidad grave o potencialmente mortal, esta interrupción es definida hasta que desaparezcan los síntomas dando inicio a un esquema diferente, suplantando el anterior [11].

1.11.1 Función renal en la terapia ARV

Un aspecto relevante de la terapia antirretroviral es la evaluación de la función renal. La importancia de esta evaluación es por el aumento de información sobre el envejecimiento y las comorbilidades asociadas. El riesgo a nefrotóxicos es usual, y varios fármacos ARV dentro de los tratamientos en la actualidad poseen potencial nefrotóxico, hay algunos ARV

que inhiben determinados transportadores tubulares que elevan valores de creatinina sérica, lo que altera las estimaciones en la tasa de filtración glomerular[16].

1.11.2 Función hepática en la terapia con ARVS

Hepatotoxicidad es un término médico empleado para referirse a una lesión del hígado causada por un fármaco, en este caso como consecuencia o efecto secundario de antirretrovirales, este daño hepático es una causa habitual de morbilidad, mortalidad y de interrupción del tratamiento. Casi todos los ARV se han relacionado con el incremento de las enzimas hepáticas, aunque ciertos medicamentos pueden causar daño hepático con mayor frecuencia que otros. Además, ciertas comorbilidades, tales como la hepatitis B o hepatitis C pueden predisponer a los pacientes a esta situación. Se ha explicado mecanismos fundamentales de daño hepático por fármacos ARV: incluidos daños metabólicos, reacciones de hipersensibilidad, toxicidad mitocondrial y los fenómenos de reconstrucción inmune. Estas reacciones hepatotóxicas se pueden evitar al hacerlas dependientes de la dosis son sobre el efecto directo del fármaco. [16].

1.11.3 Perfil metabólico y ARVS

Aquellos pacientes infectados con VIH presentan un elevado riesgo cardiovascular no solo relacionado con los factores de riesgo tradicionales, sino con otros factores, tales como: la inmunodeficiencia, la inflamación crónica causada por el VIH y la posible acción directa de ciertos antirretrovirales. Hay ARV que tienen un mejor impacto sobre el perfil de lípidos por sobre otro, con variaciones incluso si son de la misma familia[14].

Se recomienda evaluar a aquellos pacientes que desarrollen alteraciones metabólicas o presenten deterioro del riesgo cardiovascular, siempre que no comprometa la eficacia inmunológica y virológica asociada o no al tratamiento hipolipemiente[16].

1.12 RESISTENCIA A LOS ARV

En la actualidad se tiene varios casos relacionados a la creciente resistencia que se ha estado adoptando en estos años, hay métodos actuales que evalúan la farmacoresistencia pero que son sumamente costosos y complejos para ser utilizados en la práctica común como parte de una estrategia de salud pública, por lo que, en la actualidad, la OMS no recomienda la realización sistemática de las pruebas de resistencia con fin de orientar la selección del

esquema de TAR. Hay países que utilizan las pruebas de resistencia con el objetivo de fundamentar las terapias antirretrovirales. [11].

Los factores que contribuyen a la resistencia al tratamiento con ARV se pueden clasificar en las siguientes categorías:

- I. Factores propios del virus
- II. Los factores relacionados con los fármacos
- III. Los factores programáticos y la retención de los pacientes en el tratamiento.

Teniendo detectadas todas estas situaciones, se pueden aplicar medidas en los consultorios o vez que se detectan estas situaciones, se pueden aplicar medidas en los consultorios o a escala programática destinadas a optimizar la atención del paciente y aminorar así el surgimiento de la farmacorresistencia a los ARV[11].

1.13 FARMACORRESISTENCIA DEL VIH

La farmacorresistencia es asociada por un cambio (mutación) en la estructura genética del VIH afectando la capacidad de un medicamento o una determinada combinación de medicamentos de bloquear la replicación del virus [18].

1. FRVIH adquirida aparece cuando emergen mutaciones del virus como consecuencia de la replicación viral en personas con TAR
2. FRVIH transmitida (FRT) se detecta en personas que no han llevado un tratamiento con anterioridad y no tienen antecedentes de exposición a dichos fármacos. Esta se produce cuando personas no infectadas sufren una infección por un virus con las mismas mutaciones de farmacorresistencia que se detecta en personas que no han sido tratadas anteriormente con medicamento ARV y no tienen antecedentes de exposición a dichos medicamentos. La FRT se produce cuando personas no infectadas anteriormente sufren una infección por un virus que tiene las mutaciones de farmacorresistencia.
3. FRVIH previa al tratamiento (FRP) se detecta en aquellas personas que no han sido tratadas con anterioridad en un esquema de TAR pero están por comenzar uno, o en personas con una o varias exposiciones previas a medicamentos ARV que inician o reinician un TAR de primera línea. La FRP es transmitida, adquirida o de ambos

tipos. La FRP puede haberse transmitido en el momento que se da la infección (FRT), o puede haberse adquirido como consecuencia de una o varias exposiciones previas a medicamentos ARV[18].

La OMS pide suplir la suspicacia de la farmacorresistencia en los programas a nivel nacional contra esta infección, mediante el rastreo anual de los indicadores de alerta y la culminación de la vigilancia de la farmacorresistencia del VIH. Los métodos de valoración de la adhesión al TAR que se basan en la prescripción o en el recuento de tabletas son estimaciones objetivas calculadas a partir de los datos obtenidos de la práctica habitual de la farmacia y han demostrado ser factores pronósticos de los resultados virológicos y de farmacorresistencia. Hay ensayos clínicos al azar comunicando una selección de resistencia al VIH en al menos 70% de los pacientes con fracaso virológico, así como otros estudios documentan la ausencia de resistencia al comienzo del TAR[11].

LA VACUNA CONTRA EL VIH.

Aun teniendo la vacuna del VIH para erradicar el virus, quedan los pacientes que ya han sido infectados y los cuales se les debe de seguir dando el mejor tratamiento posible. Entonces ¿Por qué aún no se cuenta con una vacuna? una posibilidad es que las vacunas más eficaces imitan el estado de infección natural, y el virus del HIV no cumple con los criterios que se deben ajustar los agentes infecciosos para la elaboración de una vacuna[19].

- Las vacunas comunes imitan la inmunidad natural contra la reinfección que se observa en individuos que se han recuperado de dichos procesos infeccioso; no existen pacientes de VIH o SIDA recuperados.
- La mayor parte de las vacunas protegen contra enfermedades y no contra la infección; la infección por VIH puede permanecer latente durante periodos prolongados antes de causar SIDA.
- La mayor parte de las vacunas protege durante años contra virus que cambian muy poco con el paso del tiempo; el VIH-1 efectúa mutaciones con rapidez y experimenta selección eficiente de formas mutantes que evaden la inmunidad.
- Casi todas las vacunas eficaces son de microorganismos muertos completos o vivos atenuados; el VIH-1 muerto no conserva la antigenicidad y el empleo de una vacuna de retrovirus vivo plantea dudas sobre su seguridad.

- La mayor parte de las vacunas protege contra infecciones que se encuentran con poca frecuencia; pueden contraer el VIH individuos de alto riesgo todos los días.
- La mayor parte de las vacunas protege contra infecciones que penetran por las superficies mucosas de las vías respiratorias y digestivas; la gran mayoría de las infecciones por el VIH ocurre por las vías genitales.
- La mayor parte de las vacunas se somete a prueba en cuanto a seguridad y eficacia en un modelo animal antes de los estudios con voluntarios humanos; en la actualidad no se cuenta con un modelo animal adecuado para el estudio de VIH/SIDA.

El VIH-1 posee variabilidad en la mayor parte de sus antígenos vírales y su tasa de multiplicación puede ser de 10^9 virus al día. Estas variaciones, en conjunto con la tasa elevada de multiplicación, permite que se repliquen virus con mutaciones múltiples; algunos de ellos escapan de la inmunidad. El reconocimiento de diferencias relevantes en las secuencias de proteínas de la cubierta vírica en los virus aislados de un mismo paciente en diferentes momentos indica que ocurren variaciones y que algunas de las variantes se multiplican, al parecer porque evaden las defensas inmunitarias del hospedador[19].

1.14 IMPORTANCIA DE LA TAR

Es la línea de defensa más eficaz que se tiene hasta el momento y que si bien ha tenido sus márgenes de error en cuanto a la aparición de farmacorresistencia antirretroviral, de todas las familias hay una que ha tenido un comportamiento más noble y efectivo ante el TAR, esta es la familia de los Inhibidores de la Proteasa (IP). Si se hace una comparación entre las familias de ARV, los IP han mostrado menor riesgo de resistencia al fármaco al no ser de primera línea y tener una mejor barrera genética. Desde que se utilizan fármacos inhibidores de la transcriptasa, la tasa de resistencia a los ITINN se ha elevado, con disminución considerable de la efectividad[16].

1.15 HISTORIA DE LOS INHIBIDORES DE PROTEASA VIRAL

Fue a mediados de la década de los 90's cuando los inhibidores la proteasa se aprobaron, así también se incluyeron en la línea de defensa contra el virus haciendo una terapia recombinante entre familias inhibidoras de enzimas del VIH, sus combinaciones marcaron el inicio de una terapia antirretroviral altamente activa (TARGA). La adición de IP a dos INTR redujo aproximadamente a la mitad el número de pacientes cuya enfermedad se desencadenó

a SIDA o la muerte. En el 90% de los pacientes que tomaron la combinación de tres medicamentos, el número de partículas de ARN del VIH en la sangre paso de >20,000 partículas por mililitro a <500 en 24 semanas, con lo cual, los IP se convirtieron en un pilar para el tratamiento de la infección por VIH.

Al llegar los primeros IP en el desarrollo de TAR, hicieron posible la combinación con tres fármacos de doble clase. Además el uso clínico de esta primera generación eran Saquinavir, Ritonavir, Nelfinavir, Amprenavir, estuvo limitada por la baja BD y la alta carga de tabletas, con esto también el incremento de dosis, lo que finalmente disminuyo la adherencia[20].

1.15.1 ¿Qué son las proteasas?

Las proteasas son enzimas con actividad que hidrolizan enlaces peptídicos de proteínas. Estas hidrolisis se producen mediante diversos mecanismos moleculares, criterio por el cual, las proteasas se clasifican en distintas subfamilias: aspartato proteasas, serina proteasas, treonina proteasas, cisteína proteasas, ácido glutámico proteasa y metaloproteasas. En algunos virus el procesamiento de proteínas es mediada por proteasas, en consecuencia, se da la maduración de las proteínas a partir de poliproteínas precursoras. Este proceso proteolítico es fundamental para la creación de partículas víricas infecciosas (maduras), ya que confiere a las proteínas hidrolizadas su capacidad funcional, interviniendo en el ciclo replicativo del virus. Por esto mismo se han desarrollado fármacos que, al inhibir la actividad de la proteasa, genera que no se produzcan nuevos viriones y con esto no sean infectivos, esto ayuda a reducir la carga viral en pacientes con VIH [21].

Las proteasas virales son diferentes entre ellas dependiendo del virus que las exprese, entre otras diferencias, esta, la especificidad de sustrato como en su secuencia aminoacídica, sus subunidades, su mecanismo de proteólisis y su unión con cofactores activadores o inhibidores. Aunque, en general esta enzimas comparten ciertas características en común: las proteasas virales generalmente realizan hidrolisis en enlaces específicos entre aminoácidos específicos, y todas ellas poseen una serie de regiones de especificidad por el sustrato sobre el que actúan, en su centro activo. No obstante, estas regiones difieren para cada proteasa, y son determinantes en relación con el desarrollo de inhibidores que actúen sobre el centro activo, ya que presentan interacciones en específico debido a los distintos aminoácidos que presentan en estas zonas, denominadas pliegues[21]. Estos, son enumerados con la letra S y

siguen una numeración del 1 al número “n” de aminoácidos presentes en la cadena de enlace aminoacídico, es así como tenemos una secuencia como S1, S2, S3, cuando interactúan con la parte del extremo amino terminal de la poliproteína/inhibidor, y S'1, S'2, S'3... cuando son relativas a la parte carboxilo terminal del aminoácido.

La región donde se lleva a cabo la interacción entre el radical variable del aminoácido previo al enlace peptídico, el cual sufre hidrólisis se le denomina S1 y la parte que sufre la hidrólisis se denomina P1; S2 corresponde a la región que lleva a cabo la interacción mediada por el aminoácido anterior (P2), y así sucesivamente, siendo análoga la numeración de las regiones que interactúan con P'1, P'2, P'3.

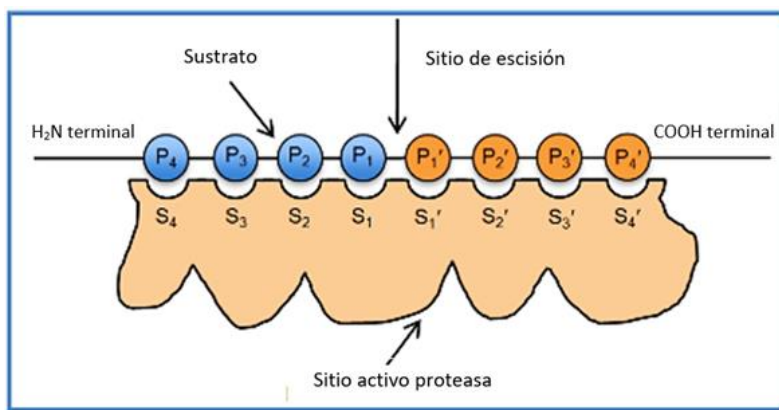


Figura 1. Ilustración de una proteasa, su centro activo y las interacciones entre residuos y pliegues[22].

Los inhibidores de proteasa se les dice peptidomiméticos ya que estructuralmente imitan los puntos de cadena peptídica en donde la enzima realiza los cortes (tirosina-prolina y fenilalanina-prolina) suplantando al propio polipéptido en el sitio catalítico de la proteasa. Tienen un potencial antiviral, mayor a los ITIN e ITIAN, los cuales son susceptibles a las mutaciones y esto origina resistencia a los fármacos. pero con las ventajas de no activar el fármaco en el interior del linfocito CD4 y de tener actividad frente a la mayoría de cepas de VIH-1 y también de VIH-2, incluyendo cepas resistentes a otros antirretrovirales[21].

Los IP con un potenciador farmacológico como ritonavir, cuando se determina y administra cuidadosamente, presentan muchos resultados deseables.

- a) Permite la administración a una dosis más baja, mantiene niveles terapéuticos y mejora la posología.

- b) Disminuye la variabilidad en sangre y eleva la barrera farmacológica para evitar la resistencia.
- c) Disminuye los efectos secundarios posibles a presentarse .
- d) Eleva la eficacia del fármaco.

Una gran ventaja de este grupo es que se han detectado pocas o nulas mutaciones después de fallar el primer régimen, este tratamiento puede ser útil para personas con una adherencia terapéutica. Se detectan pocas o ninguna mutación de los IP después de que un paciente fallara su primer régimen basado en estos inhibidores y, por esta razón, este tratamiento puede ser útil para pacientes con adherencia terapéutica deficiente[20].

Los fármacos de este grupo tienen en común algunas características farmacocinéticas: BD oral moderada, distribución elevada, y eliminación relativamente rápida por metabolismo hepático. Como se ha mencionado los IP suelen tener mejor actividad terapéutica al estar acompañados de otros fármacos de la misma familia nombrados potenciadores tal como el ritonavir o el cobicistat que tienen ventajas de eficacia y barrera genética respecto a los IP NO potenciados, aunque con el inconveniente de aumento de la incidencia de efectos adversos. Por lo general los inhibidores de proteasa son bien tolerados, aunque cabe destacar como reacciones adversas poco frecuentes, las alteraciones del metabolismo en forma de lipodistrofia, así como anormalidades metabólicas, como aumento de colesterol, triglicéridos, hiperglucemia y resistencia a la insulina[21].

1.16 PROTEASA DE VIH

1.16.1 Estructura

La proteasa del VIH es una enzima perteneciente a la subclase del aspartato proteasas, formada por un dímero que posee dos subunidades idénticas de 99 aminoácidos. Posee un centro activo rodeado de hélices β que contiene dos tríadas catalíticas de Asp, Gly y Thr (25-27 y 25-27'). Entre ambos monómeros, se producen varias interacciones, siendo de mayor importancia las de topo enlace de H y enlace iónico, principalmente en tres zonas: el centro activo, sobre el que se han identificado 5 enlaces de H en los residuos 49-52 (49-52'), contribuye con 2 enlaces de por puente de hidrógeno. Esta zona puede adquirir distintos grados de conformación entre abierta y cerrada, por último, se producen interacciones en los extremos de la secuencia aminoacídicas tanto amino como carboxilos terminales, formando

láminas β , interactuando los residuos 1-4 (1-4') y 96-99 (96-99'), formando los residuos 96-99 (96-99') al 75% del total de la energía de Gibbs de dimerización. También se producen 8 enlaces de hidrógeno entre los residuos 6-8 (6-8'), 29 (29') y 87 (87')[22].

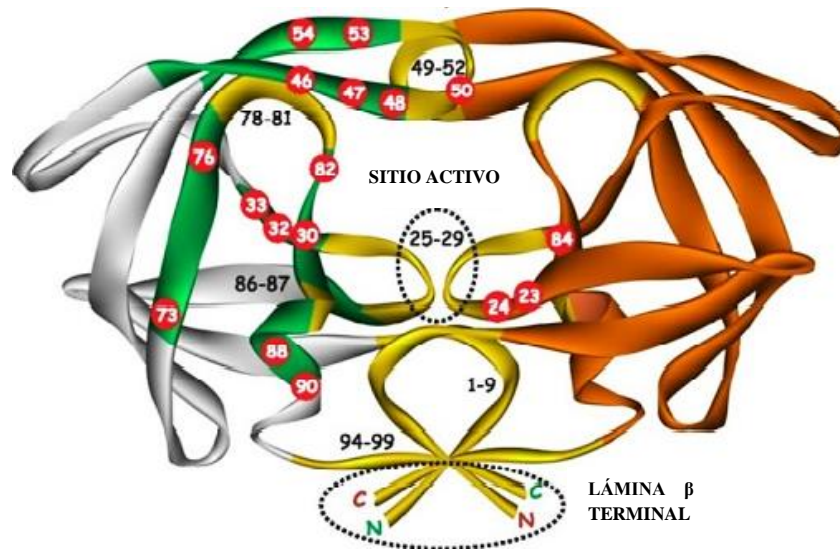


Figura 2. Estructura proteica de la HIVpr[22].

1.16.2 Mecanismo de acción de proteasa en el VIH

La proteasa del VIH se encarga de cortar las poliproteínas Gag-pol y Gag que no son prácticas, para dar lugar a proteínas más pequeñas que en conjunto con el material genético formarán los viriones infecciosos maduros que continuarán el ciclo de vida del VIH[23,24].

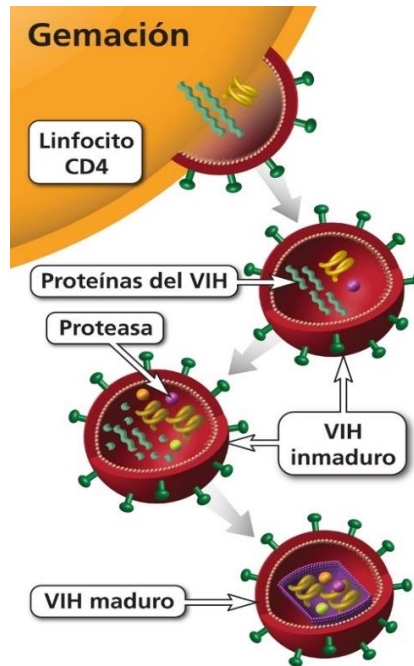


Figura 3. Esquema donde el virión maduro sale para liberar la proteasa e infectar más células[24].

Desde el punto de vista molecular, al interactuar los diferentes pliegues del sitio activo con la lipoproteína, el enlace a romper está situado en su posición más conveniente produciéndose una hidrólisis debido a la acción de los residuos Asp25 y Asp25' de ambas subunidades. Ambos se encuentran coordinados con una molécula de H₂O, un Asp está protonado. La molécula de agua produce una reacción nucleofílica sobre el carbono carbonílico del enlace peptídico, produciéndose después la rotura del enlace peptídico[22].

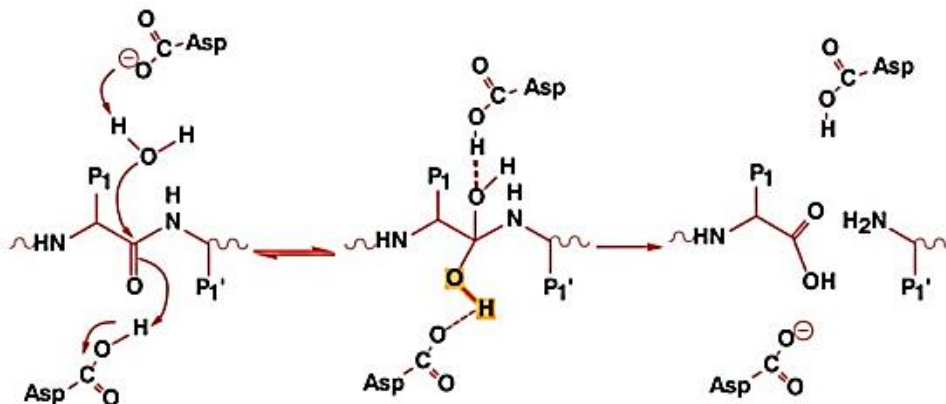


Figura 4. Mecanismo de acción de HIVpr[22].

Pese a que no existen secuencias de consenso definidas en relación con los péptidos que son hidrolizados por esta enzima, estos poseen Phe en P1 y generalmente Pro en P'1 (S1 y S'1) estructuralmente son muy similares. Poseen, además un aminoácido ramificado en P2. Los carbonos carbonílicos en P1 y P'1 del péptido hidrolizable, se encuentran coordinados con una molécula de H₂O que a su vez interactúan con los residuos Ile50 e Ile50' de las "solapas" de la enzima, siendo necesaria esta interacción para la actividad enzimática[22].

1.16.3. Mecanismo de acción de inhibidores de proteasa de VIH.

Los inhibidores de la proteasa son fármacos que contienen un estado de transición isómero, esta es una forma inactiva diseñada para activarse en el sitio de acción. Estos isómeros imitan el estado de transición de la escisión catalítica de la enzima[25]. Se puede considerar a la mayoría de los IP con excepción de Tipranavir como peptidomiméticos con esto entendemos que tienen una estructura donde se observa un carbono quiral y sobre este un grupo OH, esto los hace estructuralmente análogos del estado de transición del sustrato de la enzima[22]. Es el grupo OH secundario de estos compuestos el que reemplaza aquel estado de transición de alta energía observado en la hidrólisis catalítica del enlace amida escindible del sustrato, e interactúa con el Asp25/25' en el sitio activo de la enzima de manera similar a como lo haría su sustrato, pero con una propiedad añadida de no ser escindible por la enzima[25]. Los IP inhiben que dicha enzima realice su función uniéndose de forma competitiva además son selectivos y poco tóxicos. Solo las poliproteínas quedan sin fragmentar, los viriones no pueden madurar y pierden su capacidad infectiva. Son fármacos efectivos contra VIH-1 y VIH-2, [23].

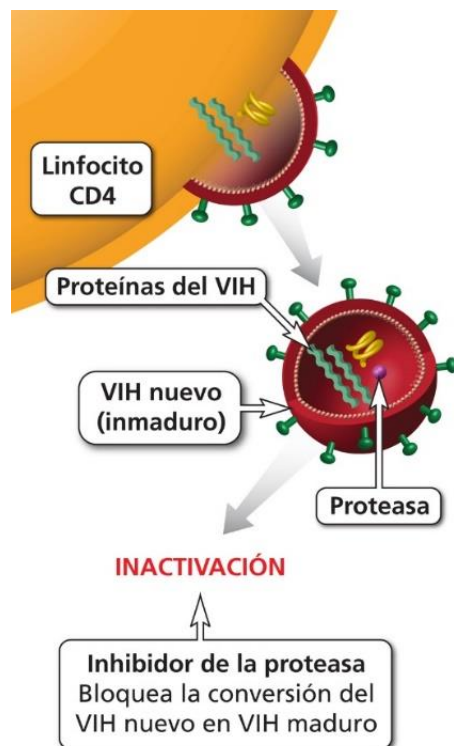


Figura 5. Uso de fármacos IP que evitan la maduración del virión[24].

1.16.4 Fármacos inhibidores de la proteasa viral empleados en el TAR

En este grupo se encuentran fármacos como atazanavir, darunavir, lopinavir y saquinavir. Si bien los IP son muy buenos y han tenido respuestas favorables en comparación de otros inhibidores, necesitan ser administrados en conjunto con un potenciador para que puedan ser administrados la menor cantidad[23].

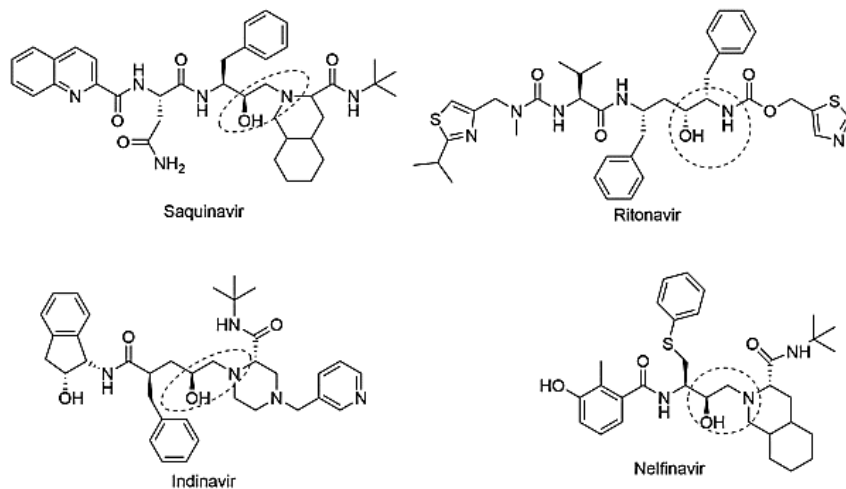


Figura 6. Estructura de fármacos IP de primera generación[25].

Los inhibidores de la proteasa de 1° generación incluyen a saquinavir, ritonavir, indinavir, y nelfinavir. Estos fármacos son poco usados debido a su baja disponibilidad, baja potencia y toxicidad. Aun así se recomiendan en medicamentos HAART de 2°/3° generación, en especial aquellos pacientes que han tenido exposición antirretroviral previa que resultó en fracaso del TAR, rebote, intolerancia, resistencia, etc.[25].

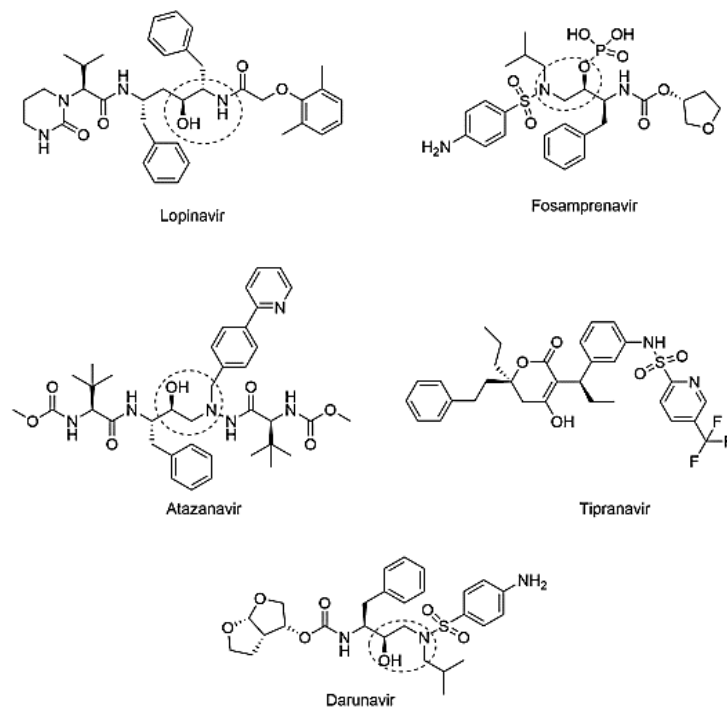


Figura 7. Estructuras de fármacos IP de segunda generación[25].

Los inhibidores de la proteasa de segunda generación incluyen lopinavir, amprenavir, atazanavir, tipranavir, darunavir y el profármaco fosamprenavir. Estos fármacos desarrollaron para mejorar la eficacia, seguridad y perfiles de resistencia en comparación con los fármacos de primera generación[25]

1.16.5 Metabolización por los IP

Todos los inhibidores de proteasa son metabolizados por el hígado o vía hepática (isoenzimas del citocromo P450). Las principales interacciones medicamentosas relacionadas con los IP ocurren como resultado de la inducción o inhibición del CP3A4. Debido al efecto inhibitorio

produce interacciones favorables para la farmacocinética con fármacos como inmunodepresores, estatinas o antagonistas del calcio, entre otros [14].

1.16.6 Ventajas y desventajas en el inicio del TAR

En el inicio de tratamiento con antirretrovirales se debe usar en combinación dos familias diferentes de fármacos antirretrovirales para tener buena tolerabilidad, y bajas probabilidades de toxicidad, así como resistencia. En el caso de los IP pueden usarse como ARV de primera línea en combinación con los ITIAN pero deben ir potenciados con RTV o COBI, sin embargo, debido al potencial riesgo de interacciones[23]. Los IP presentan buena eficacia clínica documentada correctamente, hay una selección relativamente lenta de la resistencia cuando el tratamiento sea óptimo. Como desventaja hay alteraciones metabólicas en el perfil de lípidos[10].

Fármacos	Atazanavir	Darunavir	Lopinavir	Saquinavir
Dosis normal	300+100 mg RTV cada 24 horas 400 mg cada 24 horas	300+100 mg RTV cada 12 horas	400/100 mg cada 12 horas	500+100 mg RTV cada 12 horas
Vía de administración	Oral			
BD	68%	37%	-	4%
Vm (hr)	12-6,5	15	5-6	7
Metabolismo	Hepático			
UPP	86%	95%	98-99%	97%
Actividad	VIH-1	VIH 1,2	VIH 1,2	VIH-1,2

BD: Biodisponibilidad, Vm: Vida media plasmática, UPP: Unión a proteínas plasmáticas.

Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos de los IP[14].

El tratamiento para VIH con inhibidores de la proteasa actualmente ofrece un buen pronóstico, sin embargo, los efectos secundarios asociados con este TAR, son las alteraciones gastrointestinales y metabólicas[25,14]. Presentan en su mayoría alteraciones en el perfil lipídico y otros como [26]:

- Trastornos metabólicos.
- Nefrolitiasis.
- Intolerancia gastrointestinal: náuseas, diarrea...etc.
- Alteración en el perfil hepático (mayor frecuencia con TPV/r).
- Afecciones en la piel como el rash cutáneo.
- Trastornos en sangre en la línea de plaquetas, alterando la coagulación.
- Infarto de miocardio e ictus.

ATAZANAVIR

Origen y química: El sulfato de atazanavir es una sal de sulfato, análogo aza-dipéptido con un sustituyente bis-arilo en el resto (hidroxietil) hidrazina con actividad contra las formas de tipo mutable de la proteasa del VIH[27].

Farmacodinamia y mecanismo de acción: Es uno de los más eficaces Inhibidores de proteasa, con código ATC J05AE. Previene la formación de partículas virales maduras mediante la inhibición, en el citoplasma de las células infectadas, el procesamiento de las cadenas poliproteicas precursoras (gag y gag-pol) de numerosas proteínas y enzimas esenciales para la supervivencia del VIH-1[28].

Farmacocinética: Atazanavir es de rápida absorción oral (70% de biodisponibilidad oral). Ocurre metabolismo hepático CYP450 por la isoenzima CYP3A4, lo que hace que su potencial de interacciones medicamentosas con otros fármacos que utilizan este sistema sea elevado.

Indicación y posología: La dosis recomendada es de 300-400 mg una vez al día en pacientes con VIH sin tratamiento previo. Para la mayoría de los pacientes, se recomienda un régimen de 300 mg y 100 mg de ritonavir[27].

Eficacia clínica: En pacientes que inician con el tratamiento, la eficacia de atazanavir se ha comparado con nelfinavir o efavirenz en varios ensayos de fase II y fase III. Los tratamientos con atazanavir tuvieron eficacia similar a los que emplearon nelfinavir o efavirenz. En el grupo de pacientes tratados con atazanavir aumentaron las cifras de linfocitos TCD4 82% de los pacientes que completaron 108 semanas de tratamiento mantuvieron cargas virales imperceptibles. ATV sin refuerzo produce cambios lipídicos más favorables que EFV, lo que podría estar asociado a menor riesgo cardiovascular[29].

Efectos adversos: Atazanavir es un fármaco bien tolerado independientemente de que se administre asociado o no a ritonavir. Aquellos pacientes tratados con ATZ tienen una predisposición muy escasa a d dislipemias. Los efectos adversos que con mayor frecuencia se asocian al uso de IP son la resistencia insulínica y la lipodistrofia[28].

LOPINAVIR

Origen y química: En 1997, el laboratorio Abbott dio a conocer en la 4ª Conferencia sobre Retrovirus e Infecciones Oportunistas, un nuevo inhibidor de proteasa, ABT-378, que más tarde se denominaría lopinavir. Los estudios efectuados, mostraron que lopinavir es de 3 a 4 veces más activo contra el VIH que ritonavir. Administrado solo, lopinavir exhibe poca biodisponibilidad.

Farmacodinamia y mecanismo de acción: Lopinavir es un inhibidor de las proteasas del VIH-1 y VIH-2. Al inhibir de la proteasa del VIH evita el corte de la poliproteína gag-pol, da lugar a la producción de un virus inmaduro no infeccioso.

Farmacocinética: Lopinavir es el único IP que está co-formulado con ritonavir. Cuando se administra con ritonavir, el AUC aumenta significativamente potenciando el efecto farmacológico antiviral. Sufre un metabolismo oxidativo significativo mediado por CYP3A4 y, junto con ritonavir, es un inhibidor potente de CYP3A4, por lo que tiene un elevado potencial de interacciones medicamentosas.

Indicación y posología: La dosis de lopinavir es 400 mg / ritonavir 100 mg, dos veces al día o lopinavir 800 mg / ritonavir 200 mg una vez al día. Cuando se administra en combinación con inductores potentes de CYP3A4 como efavirenz, nevirapina y amprenavir, la dosis debe aumentarse a lopinavir 500 mg / ritonavir 125 mg dos veces al día.

Efectos adversos: Los efectos adversos comunes de lopinavir / ritonavir incluyen anomalías metabólicas como hipercolesterolemia, hiperglucemia, resistencia a la insulina e hipertrigliceridemia. También se ha observado pancreatitis; náuseas, diarrea, y probablemente se atribuyan a los 200 mg de ritonavir concomitante[27].

DARUNAVIR

Origen y química: Este fármaco fue aprobado para uso médico en los E.U. en 2006 y en la Unión Europea en 2007. Es un inhibidor no peptídico de la proteasa (PR) que se aloja en el

sitio activo de la proteasa viral a través de varios enlaces de hidrógeno. Fue desarrollado para incrementar las interacciones con la proteasa del VIH-1 y para ser más resistente contra las mutaciones de este mismo.

Farmacodinamia y mecanismo de acción: Inhibe selectivamente la división de las poliproteínas codificadas Gag-Pol del VIH en las células infectadas por el virus, previniendo así la formación de partículas virales maduras e infecciosas.

Farmacocinética: Darunavir tiene una absorción del 30% después de la administración oral, y su administración con alimentos aumenta la biodisponibilidad. Se une a proteínas (95%) a la glicoproteína ácida alfa1 y es metabolizada por CYP3A4. Su vida media de eliminación es de aproximadamente 15 horas

Indicación y posología: Las dosis es de 600-800 mg dos veces al día, generalmente asociado a ritonavir 100 mg dos veces al día en conjunto con ritonavir 100 mg.

Efectos adversos: Los efectos secundarios gastrointestinales son los más comunes (náuseas, vómitos, diarrea). Hay incidencia en erupciones cutáneas de un 10% durante las primeras 4 semanas de tratamiento. Se observa hepatotoxicidad en un 0,5% de los casos. Como otros IP, darunavir se ha relacionado a complicaciones metabólicas, que incluyen dislipidemia e hiperglucemia. Tiene una barrera más alta de resistencia que otros IP y una eficacia antiviral superior en comparación con lopinavir/ ritonavir[27].

SAQUINAVIR

Origen y química: Este fármaco fue desarrollado por la farmacéutica Roche. Se trata del sexto antirretroviral y el primer inhibidor de la proteasa que fuera aprobado por la FDA, EE. UU.

Farmacodinamia y mecanismo de acción: Es un inhibidor competitivo de la proteasa del VIH. Saquinavir se une al sitio activo de la proteasa del VIH con lo cual previene la escisión de las poliproteínas virales, evitando la maduración del virus. .

Farmacocinética: Posee una biodisponibilidad oral baja ya que sufre un metabolismo de primer paso por medio de CYP450, aumenta con una comida, especialmente la rica en grasas, razón por la cual se administra con las comidas.

Indicación y posología: La dosis recomendada es de 1000 mg dos veces al día y administrado en conjunto con ritonavir 100 mg al día.

Efectos adversos: Algunos efectos más comunes son náuseas, diarrea, cefalea, entre otros, se recomienda realizar electrocardiograma antes de dar inicio al tratamiento con saquinavir. Se debe tener precaución al administrarlo a personas con SIDA ya que tendrían mayor riesgo a desarrollar hipertrigliceridemia y pancreatitis.[27].

OBJETIVOS

Objetivo general

Reposicionar fármacos contra la proteasa asociada al VIH usando la base de datos de drugbank.

Objetivos particulares

- Recabar información de Drugbank sobre los fármacos relacionados con la proteasa del VIH.
- Comparar con fármacos de referencia la actividad de acoplamiento, identificando los de mejor energía y ordenarlos en forma creciente.
- Aplicar criterios farmacológicos para determinar los factores que limitan y potencian la acción de los fármacos finalistas.

METODOLOGÍA

Estudio *in silico*

Se realizó una base de datos en Excel, donde se tuvieron 4486 moléculas, algunos isómeros o conformaciones que pudieran estar relacionados con la proteasa viral del VIH. Se tomaron como referencia a 5 fármacos que pertenecían a diferentes familias de ARV. Con su Docking score se agruparon las moléculas de la base de datos acorde a su energía de acoplamiento, solo quedaron 2664 moléculas, también se aplicaron criterios del Código ATC para establecer la familia de fármacos a la que pertenecen, y nos enfocamos en aquellos que estuvieran dirigidos a enfermedades infecciosas. Otro criterio aplicado fue el de Ghose y Lipinsky, cuyas reglas de acondicionamientos nos indica si el fármaco es apto para administración. Al final los criterios a considerar son los de la FDA con esto se sabe si el fármaco está aprobado en el país, y el criterio del IMSS con el que se conoce si el fármaco está dentro del TAR.

Selección de candidatos

Para la de elección de diana se aplicaron criterios energéticos realizando una comparativa con los fármacos de referencia. Posteriormente se aplicaron criterios para adecuación de fármacos, la regla de los 5 de Lipinsky y Ghose, con el fin de filtrar fármacos con mejor aplicación clínica. Teniendo estos criterios aplicados en la fase 3 se analizaron aquellos candidatos óptimos para proponer una nueva alternativa en cuanto a efecto terapéutica, la cual necesita una fase clínica para valoración de riesgos y conocer adecuadamente los contra en estos fármacos.

Validación de dianas

La proteasa del HIV se obtuvo de la base SCSB-PDB a resolución de 2-3 Å con alta definición del cristal. Agregar el código PDB. También se eliminaron co-cristales y medios asociados, quedando únicamente moléculas de agua con interacción menor a 3.0 Å en el sitio catalítico usando el módulo “*Protein preparation wizard*” a pH 7.4. La estabilidad del modelo se verificó obteniendo el diagrama de Ramachandran para después minimizar con el campo de fuerza OPLS4 y gradiente RMSD <0.3 Å (Madhavi *et al*, 2021). Finalmente se utilizó el co-cristal para el proceso de re-docking con el módulo GLIDE [30]. La aceptación se definió a RMSD <2.0 Å.

Preparación de ligandos

Los ligandos de referencia se obtuvieron como co-cristal en las proteínas y la base de datos de fármacos DrugBank [31]. Los derivados complejos previamente obtenido de cristal minimizado con nivel OPLS4 y PRCG en el módulo Macromodel [32]. Para el acoplamiento molecular, los ligandos se prepararon utilizando LigPrep de Schrödinger Suite mediante el campo de fuerza OPLS4. Todos los posibles centros protonados y estados de ionización se calcularon para cada estructura con ionizer a pH 7.4. La diastereoisomeria se conservó de acuerdo con sus estructuras originales limitadas a 32 isómeros para cada ligando. Además, se generaron estados tautoméricos para cada grupo de moléculas. Posteriormente se seleccionaron los conformadores con la energía más baja para cada ligando[33,34].

Acoplamiento Molecular

El acoplamiento molecular entre los sitios de unión del receptor y los ligandos se realizó usando el módulo Glide [31], Maestro 12.7, la rejilla de interacción se preparó con OPLS4. Cada cuadro de cuadrícula se construyó sobre la base de inhibidores o ligandos de referencia cocrystalizados. El “*softening*” de las partes no polares de los receptores se llevó a cabo escalando los radios de Van der Waals en un factor de 0,08. Los átomos se consideraron no polares si se determinaba que su carga atómica parcial absoluta era $<0,25$. En flexibilidad, se permitieron rotaciones de ligando adicionales para los grupos hidroxilo en Ser, Thr y Tyr, y el grupo tiol en los residuos Cys. Además, se mantuvo la posición de unión de energía más baja de cada ligando. Las puntuaciones de acoplamiento de deslizamiento se realizaron en tres modos de detección virtual de alto rendimiento (HTVS), precisión estándar (SP) y precisión adicional (XP). Para validar el protocolo de acoplamiento inicialmente, se realizó el acoplamiento con moléculas de referencia de las respectivas proteínas dianas.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La base de datos de Drugbank cuenta con más de 2600 fármacos registrados, después de ser preparada en condiciones fisiológicas a pH de 7.4 y temperatura de 37.5 °C, se generan diferentes estados de protonación que pueden existir en condiciones fisiológicas, así como tautomerías particulares, a fin de poder analizar las interacciones entre estos estados, dado el equilibrio dinámico que existe, generando un total de más de 9000 posibles formas de interacción, de las cuales en particular interactuaron 4486 estructuras moleculares con el sitio específico de la proteasa. Posterior a este análisis y agrupando las moléculas que presentaron más de una interacción (Figura 12), obtuvimos 2664 fármacos que pueden presentar interacción competitiva espacial con la proteasa.

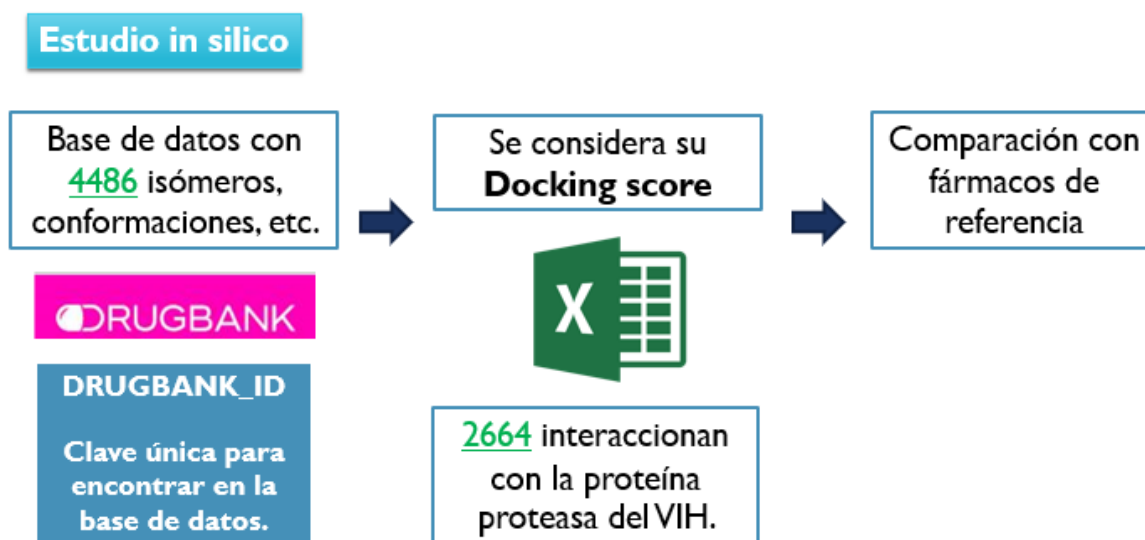


Figura 12. Proceso de análisis de obtención de fármacos para reposicionamiento contra la proteasa del HIV.

Si bien, la interacción directa con el sitio muestra gran potencial de inhibición en una proteasa, contra esta ya existen fármacos comerciales, por lo que se debe buscar que tengan una mejora significativa a estos, la cual puede ser enfocada a mejor actividad (mejor energía de acoplamiento) o menores efectos adversos, ya que al tener una mejor actividad se esperaría una menor dosis. Para esta proteasa se tomaron en cuenta 5 fármacos de referencia que pertenecen a diferentes familias de los antirretrovirales usados en el TAR del VIH. De los cuales mediante los estudios de acoplamiento molecular se determinó cuantos poseían mejor

energía de acoplamiento. En la tabla 6 se muestran los valores de esta interacción, así como el número de fármacos que pueden competir.

Tabla 6. Fármacos de referencia, energía de acoplamiento y número de fármacos candidatos a reposicionamiento.

Fármacos de referencia	Energía de acoplamiento	*Fármacos
Atazanavir	-9.38	7
Dinanoside	-6.857	270
	-4.661	
Dolutegravir	-5.839	38
	-4.857	
	-4.704	
Lamivudine	-5.689	867
Efavirenz	-5.631	23

*Número total de fármacos dentro del rango de referencia

Con estos resultados se definieron los lineamientos para analizar los criterios de inclusión para la elección de los candidatos finales a reposicionamiento.

- 1. Energía de acoplamiento:** Indica diferentes energías de acoplamiento de fármacos que tuvieran una liberación de energía superior, es decir mayor espontaneidad, esto debido a que supone mejor acoplamiento en el sitio específico para lograr mejor inhibición, al comparar con los fármacos de referencia, a fin de que sean mejores que el atazanavir se reduce a 7 fármacos para este estudio.
- 2. Código ATC:** Cada código corresponde a un uso en específico. Una vez seleccionados los fármacos con mejor energía de acoplamiento se relacionó a una clase ATC, es una forma práctica de identificar la familia de fármaco a la que pertenecen, también se observó que destacaba uno por sobre todos los demás, sin embargo, hubo otros que tenían buenas energías de acoplamiento por lo que se agregaron otros filtros, estos son los criterios de Ghose y Lipinsky, son reglas semi empíricas, pero de relevancia para determinar si un fármaco es apto y eficaz para su administración.

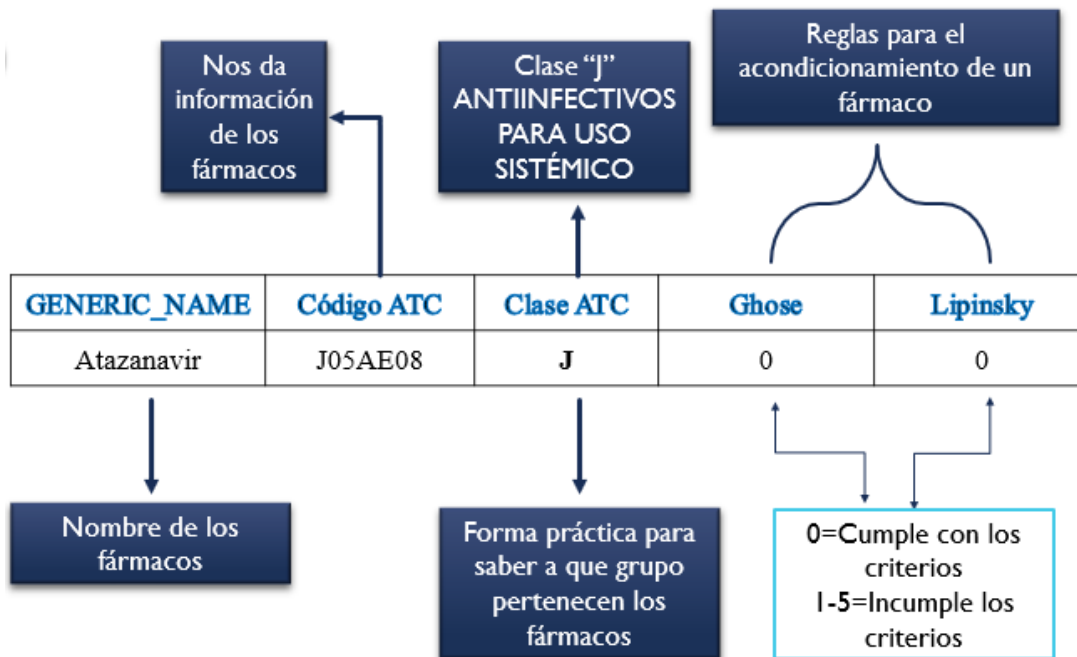


Figura 13. Análisis del grupo de fármaco y criterios de exclusión.

Con estos criterios, la lista se redujo a 8 fármacos, pero aún se debía revisar bibliografía para seleccionar aquellos fármacos aprobados en el país por la FDA y principalmente, que estuvieran en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) ya que no todos los pacientes cuentan con los recursos para adquirir su tratamiento contra el VIH de manera particular, por lo que se usaron guías de tratamiento actualizadas sobre el TAR en dicha institución

Finalmente, de los 4486 fármacos iniciales, incluimos a los siguientes 4 fármacos.

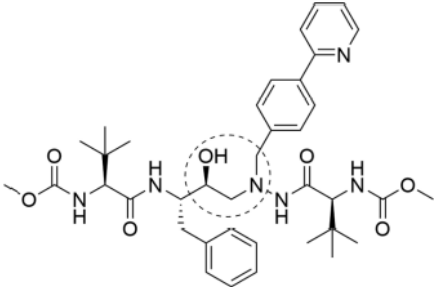

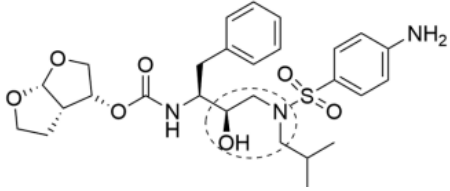
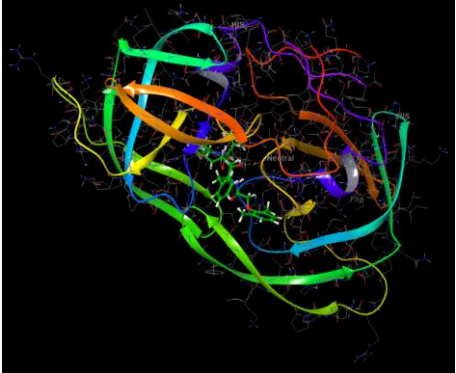
Tabla 7. Fármacos seleccionados para TAR e HIV.

DRUGBANK ID	GENERIC NAME	Docking score	Código ATC	Clase ATC	Ghose	Lipinsky	FDA	IMSS
DB01072	Atazanavir	-9.825	J05AE08	J	0	0	A	D
DB01601	Lopinavir	-9.585	J05AR10	J	0	0	A	D
DB01264	Darunavir	-6.269	<u>J05AE10</u>	J	0	0	A	D
DB01232	Saquinavir	-6.207	<u>J05AE01</u>	J	0	0	A	D

*La "A" indica APROBADO por la FDA **La "D" indica que está DISPONIBLE como parte del esquema del TAR en el IMSS

Atazanavir, lopinavir, darunavir y saquinavir pertenecen a la familia de los IP, si bien la mayoría de ellos son altamente efectivos en la primera fase de la enfermedad y en la fase final, tienen efectos secundarios. Atazanavir se administra por vía oral una vez al día, tiene menos efectos sobre el perfil de lípidos de los pacientes y presenta una energía de acoplamiento superior es suficiente para considerar una estructura como candidato, sin embargo, también hay que comprobar que la unión favorecida sea en el sitio activo. En la tabla 8 se muestra la estructura de cada fármaco propuesto para reposicionamiento, al igual que una imagen 3D del sitio activo de la enzima donde podemos ver que todas las moléculas se encuentran en la misma región indicando posible acción inhibitoria.

Encontramos un núcleo similar entre ellos formados por un hidroxilo unido a un metilo que termina con una amina terciaria, este se puede considerar como un posible farmacóforo para el reposicionamiento contra la proteasa, también para el diseño de nuevos fármacos, dado que este grupo confiere interacciones particulares para favorecer la inhibición en el sitio activo de la función proteolítica.

FÁRMACO ESTRUCTURA	NOMBRE COMERCIAL	CRISTAL, agregar el código PDB
<p style="text-align: center;">Atazanavir</p>  <p>The chemical structure of Atazanavir is shown. It features a central core with a hydroxyl group (OH) and a methyl group (CH3) attached to a nitrogen atom. This core is linked to various side chains, including a pyridine ring, a phenyl ring, and a tert-butyl group. A dashed circle highlights the hydroxyl and methyl groups, indicating the pharmacophore.</p>	<p style="text-align: center;">Reyataz® Evotaz®</p>	 <p>A 3D ribbon diagram of the Atazanavir molecule bound to the active site of the HIV-1 protease. The protein backbone is shown in various colors (green, blue, orange, purple), and the ligand is shown in stick representation, highlighting its interaction with the enzyme's active site.</p>
<p style="text-align: center;">Darunavir</p>  <p>The chemical structure of Darunavir is shown. It features a central core with a hydroxyl group (OH) and a methyl group (CH3) attached to a nitrogen atom. This core is linked to various side chains, including a piperidine ring, a phenyl ring, and a sulfonamide group. A dashed circle highlights the hydroxyl and methyl groups, indicating the pharmacophore.</p>	<p style="text-align: center;">Prezista® Rezolsta® Symtuza®</p>	 <p>A 3D ribbon diagram of the Darunavir molecule bound to the active site of the HIV-1 protease. The protein backbone is shown in various colors (green, blue, orange, purple), and the ligand is shown in stick representation, highlighting its interaction with the enzyme's active site.</p>

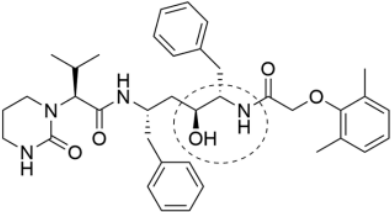

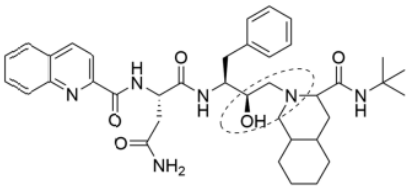
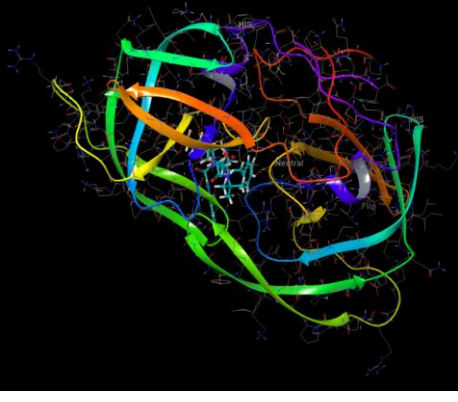
<p style="text-align: center;">Lopinavir</p>  <p style="text-align: right;">Kaletra®</p>	
<p style="text-align: center;">Saquinavir</p>  <p style="text-align: right;">Invírase®</p>	

Tabla 1. Fármacos antirretrovirales seleccionados con estructura molecular, nombre comercial y cristal.

Dado la correlación entre las estructuras para reposicionamiento, la siguiente fase fue analizar particularmente las interacciones moleculares, saliendo a relucir el hidroxilo de atazanavir (Figura 13). La interacciones son ASH B:25 por la formación de un puente de hidrogeno, mientras que con el ASP A: 25 se formó la interacción del hidroxilo hacia el aminoácido. Las particularidades en energía se transfieren por el resto de la estructura, en este caso se denota con el puente de hidrogeno hacia la GLY B: 48.

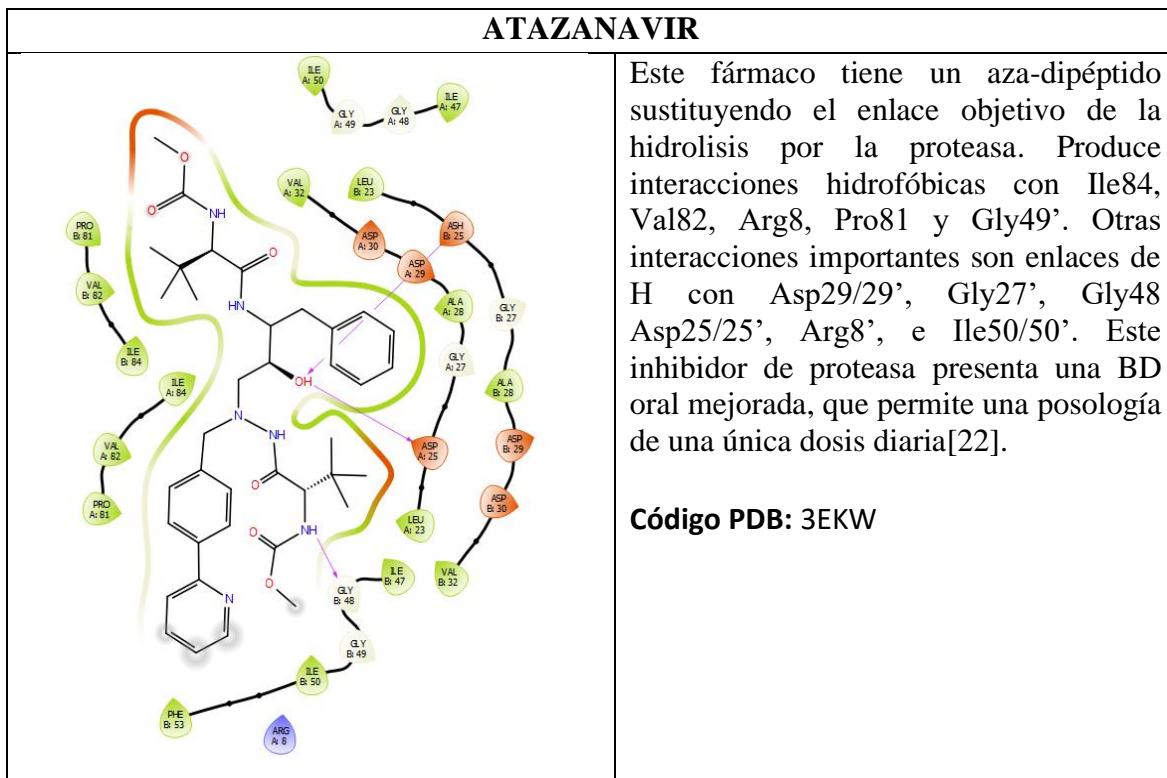


Figura 13. Representación estructural con interacciones intermoleculares de Atazanavir y la proteína.

En contraste con el lopinavir (Figura 14), la interacción diferente se da con la amida residual al isopropilo con la Gly A: 27 conservando el orden y tipo de puente de hidrogeno con los aspartatos.

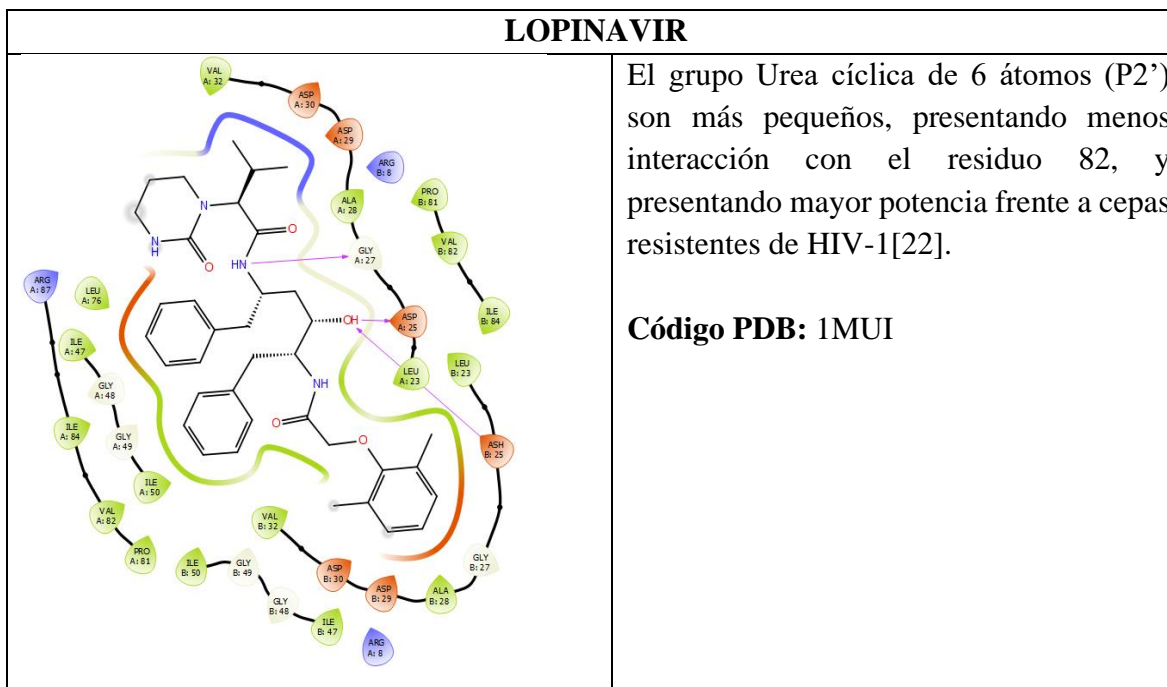


Figura 14. Representación estructural con interacciones intermoleculares de Lopinavir y la proteína.

Los que rompen esta regla son por parte del darunavir y el saquinavir, aunque presentan el farmacóforo propuesto, este interacciona ahora con la ILE A:50 y polarmente con la Gly A: 27, denotando que variaciones particulares en el resto de la estructura permiten proponer nuevos candidatos a fármacos de reposicionamiento con una orientación específica.

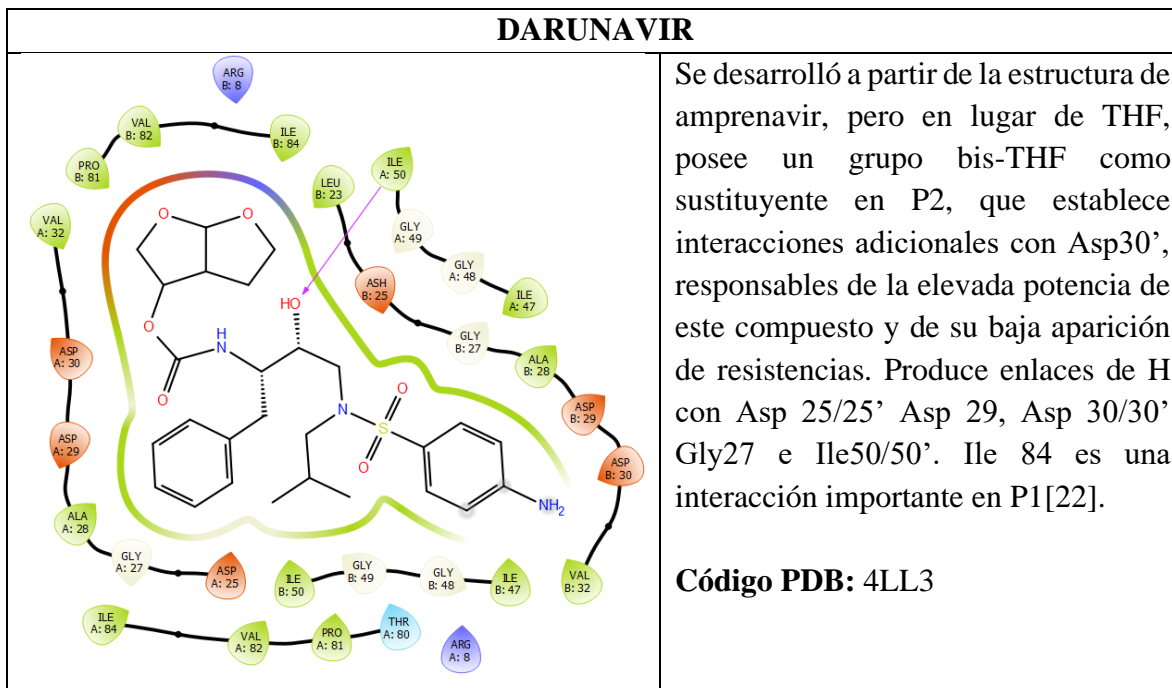


Figura 8. Representación estructural, con interacciones intermoleculares de Darunavir y la proteína.

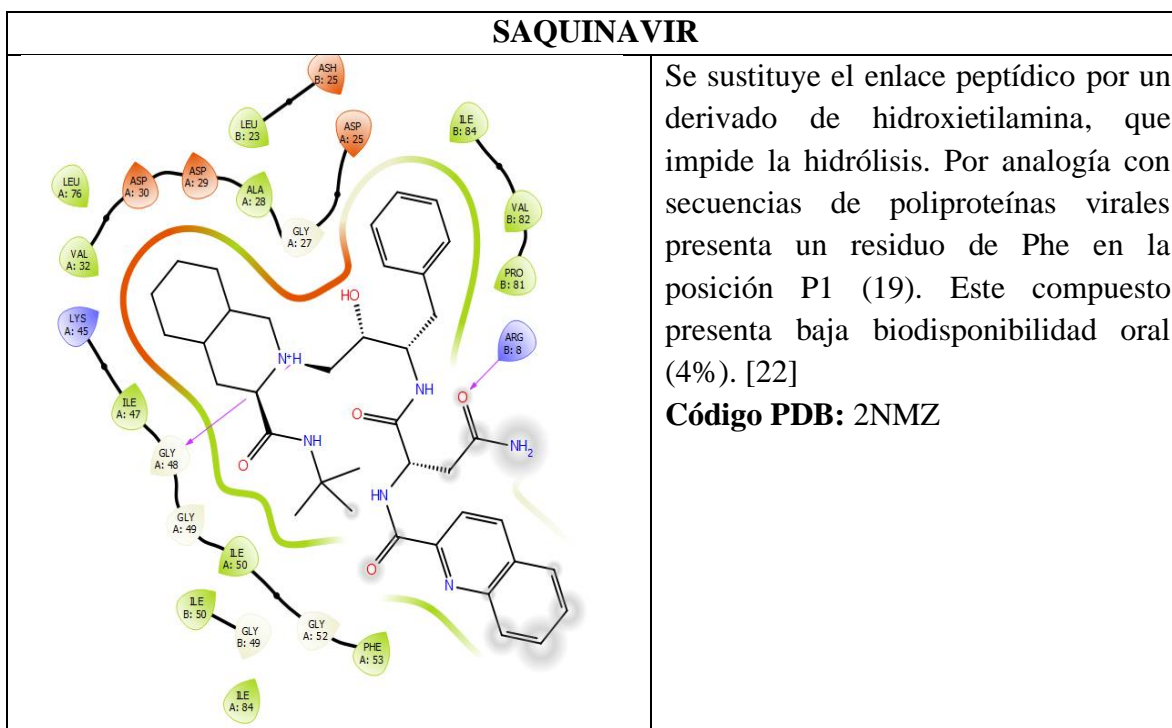


Figura 9. Representación estructural, con interacciones intermoleculares de Saquinavir y la proteína.

CONCLUSIONES

El mejor IP fue atazanavir debido a que tiene energía de acoplamiento elevada (-9.825 Kcal/mol) en comparación con los otros IP seleccionados, es de administración oral a dosis de 300-400 mg/día, biodisponibilidad de 68% que mejora al ingerir alimentos, dando también como resultado una unión a proteínas del plasma del 86%. Aunque tenga menor vida media (12-6.5 h) en comparación de darunavir (15 h) tiene mejor tolerancia, y altera menos el perfil lipídico de los pacientes. Además, tiene menos mutaciones a comparación de otras familias de ARV.

Los 4 fármacos van dirigidos al centro activo de la enzima, por lo que son peptidomiméticos, todos tienen un grupo OH sobre un carbono quiral, lo que sugiere que inhibición reversible. Al ocupar el centro activo compiten con las poliproteínas virales, dando como resultado partículas virales sin madurar (no infecciosas). Cada uno de los IP estudiados tienen un mecanismo de acción diferente debido a sus estructuras por poseer sustituciones en su enlace peptídico por hidroxietilamina (saquinavir). Las moléculas fueron desarrolladas a partir de otros fármacos como lopinavir a partir de ritonavir con grupos tiazol más pequeños con menor interacción entre el fármaco y el residuo 82 de la proteasa. Otro fármaco desarrollado a partir de darunavir a partir de amprenavir es darunavir posee un grupo bis-THF que establece interacciones adicionales con Asp30'. Por último, atazanavir posee en su estructura un aza-dipéptido que sustituye el enlace hidrolizable en las poliproteínas virales, contiene un radical fenilpiridilo que produce interacciones hidrofóbicas y enlaces de H con residuos. En otras palabras, atazanavir al tener mayor cantidad de interacciones intramoleculares con la proteasa del VIH puede inhibir de manera eficaz la maduración de las partículas virales, esto lo hace un candidato idóneo para cualquier TAR si se usa como ARV inhibidores de proteasa.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] L.G. Gürtler, J. Eberle, Aspects on the history of transmission and favor of distribution of viruses by iatrogenic action: perhaps an example of a paradigm of the worldwide spread of HIV, *Med. Microbiol. Immunol.* 206 (2017) 287–293. <https://doi.org/10.1007/s00430-017-0505-2>.
- [2] J.R. Carballal, Guadalupe; Oubiña, *VIROLOGÍA MÉDICA*, 4a ed., Virología Médica, Buenos Aires, (2014).
- [3] S. Kalinichenko, D. Komkov, D. Mazurov, HIV-1, and HTLV-1 Transmission Modes: Mechanisms and Importance for Virus Spread, *Viruses*. 14 (2022). <https://doi.org/10.3390/v14010152>.
- [4] R. Boza Cordero, Orígenes del VIH/SIDA, *Rev. Clínica Esc. Med. UCR-HSJD*. 6 (2016) 48–60. https://doi.org/10.15517/rc_ucr-hsjd.v6i4.26927.
- [5] N. Bbosa, P. Kaleebu, D. Ssemwanga, HIV subtype diversity worldwide, *Curr. Opin. HIV AIDS*. 14 (2019) 153–160. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000534>.
- [6] D.E.P.N.D.E. Eliminaci, D.E.L.A. Hepatitis, *BOLETÍN Dr . Daniel Bernal Serrano Dirección de Atención Integral*. (2021).
- [7] Secretaría de Salud, Sistema de Vigilancia Epidemiológica de VIH (3er. trimestre 2020), (2020) 19. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/588571/VIH-Sida_3erTrim_2020.pdf.
- [8] S. Jurado, *PROTEICOS DE VIH-1 DIRIGIDOS CONTRA GP41 Tesis Doctoral*. (2019).
- [9] S. sociales e I. Gesida-Ministerio de sanidad, *La transmisión y la prevención del VIH*. (2017).
- [10] F. Southwick, *ENFERMEDADES INFECCIOSAS*. (2009).
- [11] Organización Panamericana de la Salud, *Directrices unificadas sobre el uso de los antirretrovirales para el tratamiento y la prevención de la infección por el VIH*. (2016). <http://bit.ly/2Dv3d55>.
- [12] I. Pérez-Rodríguez, D. Pérez-Salgado, M.S. Compeán-Dardón, M.G. Staines-Orozco, L. Ortiz-Hernández, Efectos secundarios del tratamiento antirretroviral y apego en pacientes con VIH de dos instituciones públicas, *Med. Interna Mex.* 32 (2016) 396–406.

- [13] C. Barcelona, Familia de arv mecanismo de acción, (2019). <http://www.interaccionesvih.com/docs/Mecanismo de acción de los ARV.pdf> (consultado el 21 de septiembre de 2021).
- [14] Q.F. Fernando Bernal, Farmacología De Los Antirretrovirales, Rev. Médica Clínica Las Condes. 27 (2016) 682–697. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2016.09.013>.
- [15] N. Mendo Alcolea, E. de J. Mesa Perez, R. Neyra Barrios, L. Berenguer Gournaluses, G. Nieto Muñiz, Reacciones adversas a medicamentos antirretrovirales en pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana, Medisan. 22 (2018) 674–682.
- [16] IMSS, Tratamiento Antirretroviral del paciente adulto con infección por el VIH. (2017). <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/245GER.pdf%0Awww.cenetec.salud.gob.mx>.
- [17] S. Cabrera, Terapia Antirretroviral: cambios por toxicidad. (2017) 1–20. http://www.infectologia.edu.uy/images/archivos/Terapia_Aantirretroviral_Julio2017.pdf.
- [18] F.D.E.L. Vih, Plan de acción mundial sobre la farmacorresistencia del VIH 2017-2021, 2018. <https://doi.org/10.37774/9789275320501>.
- [19] T. Kindt, R. Goldsby, B. Osborne, INMUNOLOGÍA DE KUBY, 2007.
- [20] V.I.H. Rol, Inhibidores de proteasa. (2019) 3–5.
- [21] B. Gómez de Cortes, Infección por VIH, Trib. méd. (2018) 81–5.
- [22] M. Fernández García, Fármacos inhibidores de proteasas virales, Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun. (2015) 1689–1699.
- [23] R. Fernández Galán, Actualización del tratamiento farmacológico en pacientes con VIH. (2021) 21–23.
- [24] V.I.H. Sida, Glosario de términos. (2013) 216–227. https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2012-13-es.
- [25] A.A. Agbowuro, W.M. Huston, A.B. Gamble, J.D.A. Tyndall, Proteases and protease inhibitors in infectious diseases, Med. Res. Rev. 38 (2018) 1295–1331. <https://doi.org/10.1002/med.21475>.
- [26] Fariña Tadeo S, Navarro Díaz ES, Maestre Rojas R, Artiles Ruano MC, Pérez Mendoza JM, Montes Gómez E, Castellano Cabrera JL, Fármacos en el paciente con VIH. Antirretrovirales

y otros problemas de salud, Boletín Canar. Uso Racion. del Medicam. del SCS. 7 (2015) 1–8.

- [27] M.G. y E. c. Errecalde J., Farmacología Antiviral. (2021). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/120048>.
- [28] A. Manubens, J.L. del P. León, NUEVOS MEDICAMENTOS Atazanavir, Rev Med Univ Navarra. 50 (2006) 41–45.
- [29] F. Geldres-Molina, A. Castañeda-Sabogal, M.M. Hilario-Gómez, J.J. Barboza, Lipid profile levels in HIV-aids patients on treatment with efavirenz and atazanavir. Cohort study, Gac. Med. Mex. 157 (2021) 398–404. <https://doi.org/10.24875/GMM.20000797>.