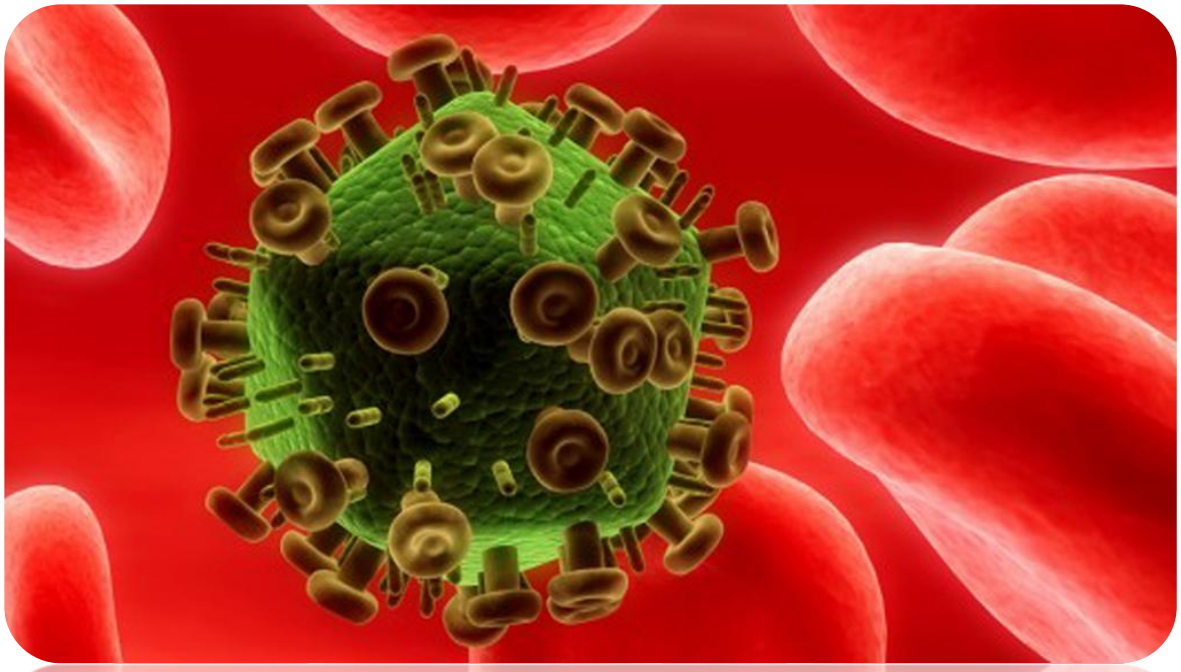
2013-2014

Firmado digitalmente por Jose M. Requena
Nombre de reconocimiento (DN): cn=Jose M. Requena, o=Universidad Autonoma de Madrid, ou=Departamento de Biologia Molecular, email=jm.requena@uam.es, c=ES
Fecha: 2015.03.20 16:08:18 +01'00'

TEMA 4. EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA



Microbiología Clínica, *Curso 2013 - 2014*

Realizado por: Rodrigo Fraile Benítez
Carmen Gallego Bernardo
Clara Lorente-Sorolla Martínez-Acitores
Alicia Serrano Drozdowskyj
Laura Vázquez Blanco

1. Introducción 2
1.1. Epidemiología 2
2. Clasificación 3
3. Composición del virus 4
4. Biología 6
4.1 Estrategia de replicación 6
5. Patogénesis 7
5.1 Fase aguda o infección primaria 7
5.2 Fase crónica o asintomática 8
5.3 Fase enfermedad 8
5.4 Resistentes de larga duración 9
6. Los receptores de quimioquinas y la infección por HIV-1 9
6.1 Identificación de los correceptores 9
6.2 Modelo para explicar el tropismo de HIV-1 10
6.3 Mecanismo de fusión y entrada de HIV-1 mediada por los correceptores 10
6.4 Los correceptores y la enfermedad causada por el HIV-1 11
6.5 Señalización a través de los correceptores inducida por el virus 12
7. Efectos del virus sobre el sistema inmunitario 12
8. Diagnóstico. 14
8. 1 Test serodiagnóstico o diagnósticos serológicos. 14
8. 1. 1 Determinación de anticuerpos mediante ensayos ELISA 14
8.1.2 El test confirmatorio que se hace comúnmente es el "*Western blot*" 15
8.1.3 Ensayo de detección de antígeno 15
8.2. Cultivo de HIV-1. 15
8. 3. Ensayos para secuencias de nucleótidos de HIV 15
8. 4 Diagnóstico de HIV-1 en neonatos y niños 16
9. Tratamiento 16
9.1 Factores que condicionan la aparición de mutantes 16
9.1.1 La frecuencia de mutación viral 16
9.1.2 La velocidad de replicación del virus 17
9.1.3 La mutabilidad intrínseca del sitio diana de la droga antiviral 17
9.1.4 La presión selectiva de la droga antiviral 17
9.2 Fármacos antirretrovirales 17
9.2.1 Inhibidores nucleosídicos de la RT 17
9.2.2 Inhibidores no nucleosídicos de la RT 17
9.2.3 Inhibidores de proteasas 17
9.3 Terapia HAART 18
10. Latencia 18
10.1. Implicaciones de la latencia viral en el tratamiento antirretroviral 19
11. Vacunas 20
Bibliografía. 23

El **sarcoma de Kaposi** (KS) es un tumor complejo de histogénesis incierta caracterizada microscópicamente por una proliferación de células en forma "spindle". El tumor a menudo aparece en la piel particularmente sobre las extremidades, la cara y los genitales, pero que se puede diseminar a los tejidos linfáticos y vísceras, especialmente en los pacientes con SIDA. Aunque aún es motivo de cierta discrepancia, se piensa que el origen del KS es un proceso infeccioso causado por un herpesvirus.

Pneumocystis carinnii es un hongo patógeno, oportunista, extracelular, que parasita el árbol respiratorio del ser humano, produciendo una infestación que se manifiesta en muchos pacientes que han sufrido de inmunosupresión. Es un agente infeccioso común entre los afectados por SIDA.

1. Introducción

El HIV (virus de la inmunodeficiencia humana) es el virus causante del SIDA (síndrome de la inmunodeficiencia adquirida). Hay dos tipos mayoritarios de HIV; la infección por el HIV-1 es la más prevalente en el mundo y se caracteriza por un deterioro lento y progresivo del sistema inmunitario que termina siendo fatal y el HIV-2 se encuentra principalmente en la zona del oeste de África y produce una patología más benigna.

En 1981 aparecen los primeros casos de la enfermedad. El primero se basó en la inusual aparición simultánea de dos enfermedades, el **sarcoma de Kaposi** y la neumonía causada por el hongo *Pneumocystis carinii* en un joven homosexual. Fueron subsiguientemente descritos otros casos en otras poblaciones (drogadictos, hemofílicos y niños nacidos de madres con SIDA), lo que sugirió una etiología infecciosa.

En 1983 se aisló el HIV-1 y se reconoció como la causa a ese síndrome. Al año siguiente se desarrollo el test de ELISA (test de anticuerpos frente a HIV), una herramienta fundamental tanto para el diagnóstico de la enfermedad como para analizar los bancos de sangre, impidiendo por tanto millones de infecciones como consecuencia de las donaciones.

La secuencia completa de HIV-1 se conoció en 1985. Se describió también ese mismo año el AZT (zidovudine) como primera droga contra el virus; su uso en humanos sería aprobado en 1987.

Además, estudios realizados en prostitutas en África revelaron la presencia de anticuerpos que eran más reactivos con proteínas del virus de la inmunodeficiencia de simios (SIV), presente en macacos africanos, que con las del HIV-1, lo que condujo al descubrimiento y aislamiento del HIV-2. Se demostró que el HIV-2 estaba más relacionado genéticamente con el SIV que con el HIV-1, lo que ha sugerido que el HIV puede haber sido introducido recientemente en las poblaciones humanas a partir de los primates en África. En 1999 se mostró que el HIV-1 tiene su origen en la especie de chimpancés *Pan troglodytes troglodyte*, en el que el virus ha co-evolucionado durante siglos. De hecho, los SIVs no parecen causar SIDA en sus hospedadores naturales. Cabe destacar además la singularidad de que los chimpancés son, entre las especies actuales, los animales más relacionados con el hombre.

En 1995 se aprueba el uso en paciente de saquinavir, primer fármaco inhibidor de la proteasa viral lo que posibilitó la formulación de la terapia antirretroviral altamente activa (HAART, "*highly active antiretroviral therapy*") **(Figura 1).**

Es el agente infeccioso más estudiado en todos los tiempos pero sigue siendo una enfermedad sin controlar. La infección por HIV ha pasado de ser una enfermedad incurable y de consecuencias fatales a ser considerada una infección crónica.

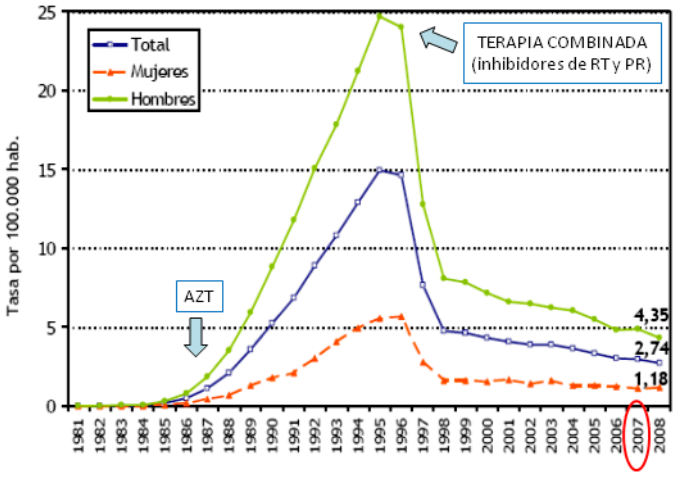


Figura 1. Gráfica que representa los años en el eje "x" y en el eje "y" la tasa de infección por 100.000 habitantes. Se muestra el uso en humanos en 1987 del AZT y en 1995 el uso del saquinavir el cual permitió una terapia combinada con inhibidores de la retrotranscriptasa y la proteasa. Ello sirvió para disminuir el número total de pacientes con SIDA, con lo que se afirma que es una buena terapia. Además se ve como el SIDA está más presente en hombres.

1.1. Epidemiología

En 1996, después de más de una década de aumentos constantes, las muertes por SIDA empezaron a decrecer en EEUU y algunos lugares de Europa Occidental. La bajada fue debida principalmente a la introducción de terapias poderosas capaces de retardar la actividad HIV. Pero esta tendencia de los países industrializados no es representativa del conjunto del mundo.

La infección por HIV se expandió rápidamente a todos los lugares. Desde principio de los años 80, alrededor de 60 millones de personas han contraído el HIV, y más de 25 millones han muerto. Se estima que, cada año el HIV-1 infecta a unos 3 millones de personas en todo el mundo, y produce la muerte de unos 2 millones de personas (según el informe de la OMS, 2007) **(Tabla 1)**.

	Adultos y niños con HIV	Adultos y niños recientemente infectados por HIV	Prevalencia en adultos (15-49) %	Fallecimiento de adultos y niños causa del HIV
África Sub-sahariana	22.5 millones	1.8 millones	5.0%	1.3 millones
África del Norte y Central	460 000	75 000	0.2%	24 000
Sur y Sureste asiático	4.1 millones	270 000	0.3%	260 000
Este asiático	770 000	82 000	0.1%	36 000
América central y Sudamérica	1.4 millones	92 000	0.5%	58 000
Caribe	240 000	17 000	1.0%	12 000
Europa Oriental y Asia Central	1.4 millones	130 000	0.8%	76 000
Centro-Europa y Europa Occidental	820 000	31 000	0.2%	8500
América del Norte	1.5 millones	70 000	0.5%	26 000
Oceanía	57 000	4500	0.3%	1400
TOTAL	33.3 millones	2.6 millones	0.8 %	1.8 millones

Tabla 1. Tabla de distribución mundial de casos de SIDA. Se muestra como la patología se extendió por todo el mundo, siendo África sub-Sahariana la región con más casos (22.5 millones de personas).

África sub-Sahariana es la región del mundo donde la epidemia es más devastadora y su impacto sigue creciendo **(Figura 2).** De los 33 millones de personas HIV positivas, aquí se encuentran el 70 % de los casos de HIV-positivos y se han dado el 80 % de las muertes por esta enfermedad. Su prevalencia media es de 8,8% en la población adulta (15-49 años), siendo en algunos países de esta región la prevalencia en adultos superior al 20%. Además, a finales de 2008 se estimó que 1,8 millones de niños (menores de 15 años) estaban infectados por HIV, de los que un 90% habían adquirido la infección a través de su madre.

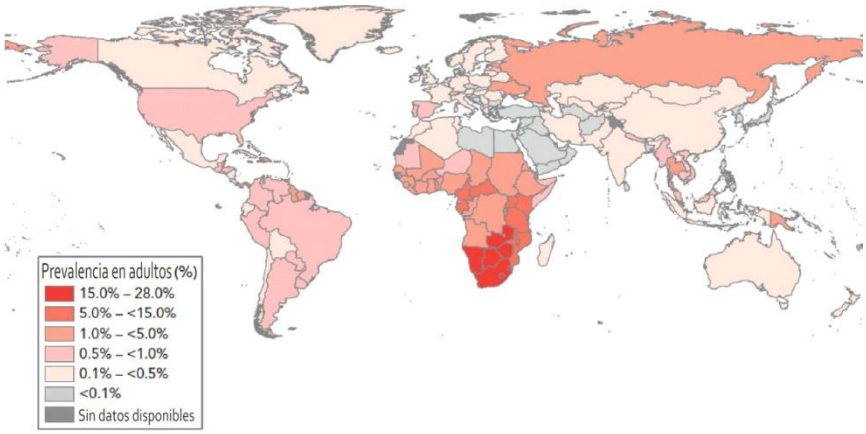


Figura 2. Se muestra la prevalencia mundial en adultos del SIDA. Se ve la distribución (en porcentajes) en todo el mundo y como la zona de Sudáfrica es la más afectada

La transmisión vertical de madre a hijo se estima que ocurre entre el 15 y el 25% de los partos de madres HIV-positivas. Teniendo en cuenta que 2,4 millones de mujeres infectadas con HIV dan a luz cada año, se van a producir unos 600.000 nuevos casos de infección en niños cada año. La transmisión puede ocurrir en el útero (como resultado de la exposición al virus a través de la placenta o en el líquido amniótico), durante el parto (por el contacto con la sangre o secreciones vaginales) o posnatalmente a través de la leche materna. En más del 80% de los casos, se produce por contaminación en el parto. En países desarrollados la cesárea programada y el tratamiento farmacológico de la madre en los días previos al parto y durante el mismo reducen la tasa de transmisión a menos del 2%.

En las zonas más afectadas como África sub-Sahariana, el HIV ha reducido las esperanzas de vida que se habían aumentado. La esperanza de vida subió de 44 años en 1950 a 59 años en 1980, pero después de estas décadas la esperanza de vida vuelve a estar por debajo de 45.

De los 49 millones de habitantes de Sudáfrica, 5,7 millones están infectados con HIV, lo que lo convierte en el país con mayor número de casos. Todo ello además con sus graves implicaciones sociales y económicas.

2. Clasificación

Tanto el HIV-1 como el HIV-2 son virus RNA que pertenecen a la familia *Retroviridae*; género *lentivirus*. Son virus citopáticos pero no oncogénicos.

Dentro de las cepas del HIV- 1 existen a su vez tres grupos genéticos: el M ("mayor", mayoritario), el O (*outlier*, altamente divergente o atípico) y el N ("non-M, non-O"). Este último descubierto recientemente, es un mosaico formado entre dos líneas virales divergentes relacionadas con HIV-1 y SIV (de chimpancé), posiblemente producidas por recombinación. La recombinación entre genomas de virus es bastante frecuente. Se considera que cada uno de estos grupos genéticos corresponde probablemente a una transmisión independiente desde los chimpancés (SIV) a poblaciones humanas. Es decir, no son el resultado de una evolución del virus.

Los virus de grupo M se encuentran distribuidos en todo el mundo, mientras que los virus del grupo O (altamente divergentes) se han aislado en África, Alemania, Francia y otras partes de Europa. Por último el grupo N solo se ha encontrado en Camerún.

El grupo M se divide a su vez en nueve subtipos genéticos o "clades" (A, B, C, D, F, G, H, J y K). Estos subtipos se establecen en base al grado de divergencia entre los genes gag y env.

La divergencia en la secuencia de aminoácidos puede llegar a ser del 35% en el caso de la proteína env, en virus de diferentes subtipos genéticos, y hasta un 20% dentro de un mismo "clade" o subtipo.

Todos estos subtipos genéticos ("clades") tienen el mismo origen, proceden de una misma cepa que se debió originar alrededor de 1930.

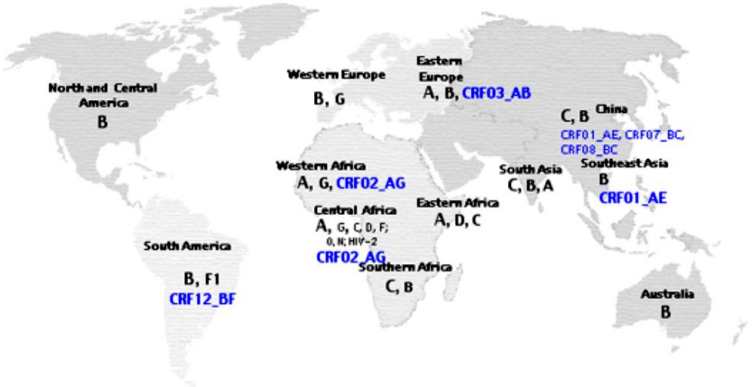


Figura 3. Distribución geográfica de los distintos subtipos ("clades") del grupo M de HIV-1. El clade B es el más común en Europa y América del Norte, mientras que el C es el más predominante en África. En azul se muestra la distribución de formas recombinantes que circulan en la población y que son el resultado de la recombinación de subtipos definidos.

3. Composición del virus

La partícula viral (virión) del HIV tiene un tamaño de entre 100 y 150 nm de diámetro, con un núcleo electrodenso donde se encuentra la información genética rodeado por una membrana lipídica cuyo origen se encuentra en la célula infectada **(Figura 4)**. El núcleo contiene dos moléculas de RNA de cadena sencilla, cada una con un genoma viral completo.

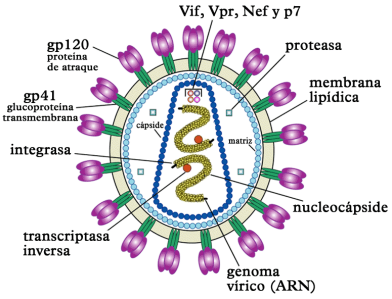


Figura 4. Estructura del virión de HIV, con las dos moléculas de RNA correspondientes, la matriz y sus proteínas y la membrana lipídica (incluyendo gp 120 y gp40).

Ese genoma viral tiene una longitud de unas 10 kb, con la estructura típica de los retrovirus **(Figura 5)**. Esto supone la presencia de regiones LTR en ambos extremos del genoma, rodeando los clásicos genes de retrovirus: *gag*, *pol y env*. **Gag** codifica componentes estructurales de la partícula viral(como MA, proteína de la matriz , o NC ,de la nucleocápside) ,mientras que **pol** contiene enzimas virales como retrotranscriptasa, proteasa o integrasa, y **env** a su vez tiene los genes codificantes de la envuelta (glicoproteína de superficie gp120, proteína transmembrana gp41).

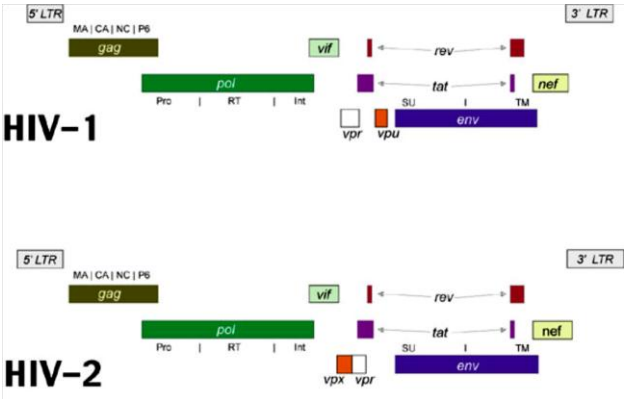


Figura 5. Estructura del genoma vírico, con los genes gag, pol y env, tanto en HIV-1 como en HIV-2.

Pero además de los genes habituales en retrovirus, el HIV presenta otros genes adicionales:

- **tat.** Activador de la transcripción, se une a un bucle del RNA que normalmente bloquea la transcripción aumentandose así la síntesis de mRNA.
- **rev.** Regulador transcripcional a nivel de la salida del mRNA al citoplasma. Rev ayuda en la exportación al núcleo de la mRNA con intrones y aumenta su traducción en el citosol.
- **nef.** Bloquea la presentación de péptidos por MHC-I e interacciona con CD4, marcándolo para su degradación.
- **vif.** Bloquea la actividad de la proteína APOBEC 3G, que se inserta en la partícula en proceso de maduración provocando errores de replicación.
- **vpr.** Proteína reguladora que detiene la proliferación celular.
- **vpu.** Se ancla en la célula infectada y tiene función reguladora. Sin ella se pierde eficacia en la maduración del virus. Solo está presente en HIV-1, en HIV-2 encontramos una proteína similar, vpx.

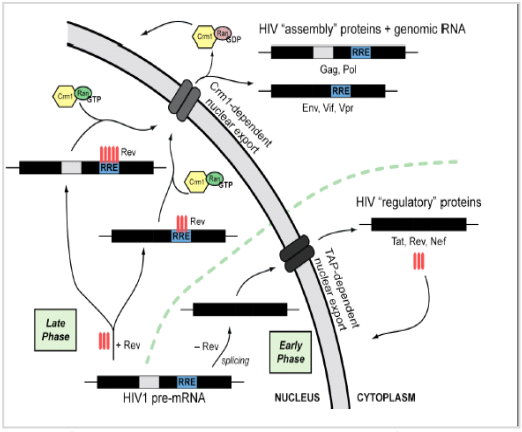


Figura 6. Proteínas exclusivas del HIV, y modo de actuación de algunas de ellas.

El principal producto del gen *env* es un polipéptido de unos 88 kDa **(Figura 7)**. Este polipéptido sufre una serie de glicosilaciones (principalmente del tipo N) en el retículo endoplasmático y en el Golgi que aumentan su peso molecular hasta unos 160 kDa. Está molécula, ya glicosilada, se conoce como gp160. En el propio retículo, la proteína se asocia con otras moléculas formando homotrímeros que son exportados a la membrana.

Durante ese transporte, actúa una serín proteasa celular dando las proteínas gp120 y gp41, diferenciadas pero aún unidas covalentemente. Si este paso se ve afectado, se producirán partículas de aspecto normal, pero que no tienen capacidad de infectar.

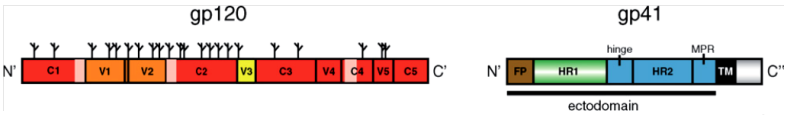


Figura 7. gp41 y gp120, productos del gen env. Podemos distinguir los distintos dominios de cada proteína.

Gp120 está implicada en el anclaje, la unión al receptor CD4 y al correceptor. Presenta cinco zonas variables (V1-V5) y otras cinco más conservadas (C1-C5). Las regiones conservadas contienen los dominios vitales para la interacción con las células, mientras que las regiones variables se encuentran en zonas más externas de la proteína. De hecho, las regiones V1-V4 forman una especie de lazos ("*loops*") que se anclan entre ellas mediante puentes disulfuro. Estos lazos variables, junto a los sitios de glicosilación, dan lugar a epítopos altamente variables frente a la respuesta inmunitaria humoral, pero su función no es sólo la evasión de la respuesta inmunitaria: los lazos V1/V2 y particularmente el V3 desempeñan papeles importantes en la unión de Env al correceptor.

La subunidad gp41 está implicada en la fusión de membranas0. La proteína tiene un dominio extracelular o ectodominio (que contiene un péptido fusogénico muy hidrofóbico que facilita la fusión, y los dominios HR1 y HR2 importantes para ésta), un anclaje transmembrana y un dominio que se extiende en el interior de la membrana del virus. Las glicoproteínas de la cubierta se ordenan como trímeros en configuración "*spike-and-knob*" (pincho y cubierta). Hay 72 trímeros por virión.

4. Biología

4.1 Estrategia de replicación

La adhesión a las células diana y la entrada del HIV-1 requiere la presencia de dos proteínas en la superficie celular: el receptor CD4 (permite el anclaje, no la entrada) y los receptores de quimioquinas **(Figura 8)**.

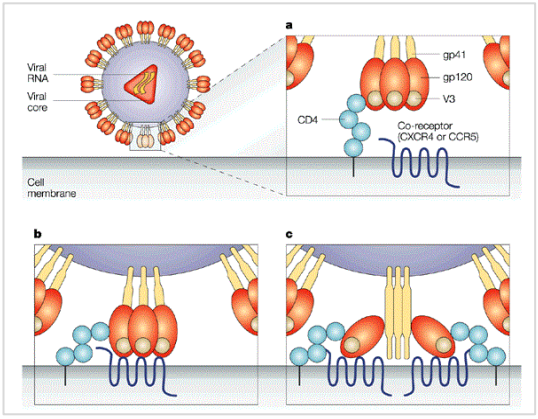


Figura 8. Anclaje y entrada del HIV. Esta figura ilustra cómo se produce el proceso de adhesión y entrada del HIV-1 en la célula hospedadora. Este proceso está mediado por la interacción entre la proteína gp120 con CD4 y el correceptor correspondiente, y la proteína gp41.

En primer lugar, la interacción entre la glicoproteína gp120, de la cubierta del virus, y CD4 va a mediar el anclaje del virus. A partir de dicha interacción se producen una serie de cambios conformacionales en la superficie del virus que permiten la fusión de la envuelta con la membrana celular y la penetración del virus en la célula hospedadora. Posteriormente, el complejo ribonucleoproteico es liberado en el citoplasma.

Existen dos copias idénticas del genoma retroviral. La conversión del RNA vírico a DNA es llevada a cabo por las actividades coordinadas de la polimerasa y ribonucleasa H de la RT vírica. La RT (DNA polimerasa dependiente de RNA), primero sintetiza una cadena complementaria de DNA a partir del RNA genómico, utilizando como cebador el tRNA-Lys celular. El tRNA-Lys celular se une a un sitio específico del genoma retroviral denominado "*Primer Binding Site*" (PBS) para iniciar la síntesis del DNA por la RT. La ribonucleasa H degrada selectivamente el molde de RNA original. El resultado final de la síntesis por RT es una molécula de DNA de doble cadena (denominada "DNA proviral") a partir de las dos moléculas de RNA genómico.

Una vez sintetizado, el DNA viral pasa al núcleo formando un complejo en el que se encuentran varias proteínas virales (integrasa, RT y Vpr) y la proteína celular HMG-1 (Y). En la mayoría de los retrovirus, el complejo provirus-integrasa es demasiado grande y no puede atravesar los poros de la membrana nuclear, por lo que sólo llega al núcleo cuando las células se están dividiendo. Sin embargo, en el caso del HIV, la proteína Vpr permite el paso del complejo a través de la membrana nuclear.

Después de la translocación al núcleo, el DNA linear de doble cadena se integra directamente en el cromosoma del hospedador por acción de la enzima integrasa. El proceso de integración no es específico de sitio y tampoco requiere el aporte de energía adicional.

Una vez integrado, la activación de la transcripción es dependiente de la actividad coordinada de factores virales y celulares. Existen varias proteínas virales, y celulares, que van a regular el proceso, pero cuya descripción excede los límites de este tema. No obstante, cabe mencionar que entre los factores celulares implicados en la iniciación de la transcripción del genoma viral está el factor de transcripción Rel/NF-κB. Este factor no existe en forma activa en los linfocitos T-CD4$^+$ en estado de reposo celular, y su síntesis es inducida únicamente en el curso de los procesos de activación inmunológica por la acción de mitógenos, citoquinas y otras proteínas activadoras. De esta manera, el linfocito T-CD4$^+$ representa un doble nicho ecológico en el ciclo biológico del HIV: en estado de reposo celular permite la latencia viral al carecer de los factores necesarios para permitir la replicación del HIV. Por el contrario, la activación celular induce en el linfocito T-CD4$^+$ las proteínas necesarias para iniciar la transcripción del genoma viral, transformándose así en una célula especialmente permisiva para la replicación del HIV.

La transcripción del DNA proviral por la RNA polimerasa II de la célula hospedadora produce transcritos de RNA de tamaño completo. Algunas de estas moléculas se exportan al citoplasma y se utilizan como mRNA, donde serán traducidos para producir las poliproteínas precursoras Gag y Gag-Pol que codificarán para elementos estructurales de la cápsida o enzimas virales.

El gen *env* es traducido por ribosomas asociados al retículo endoplasmático. La proteína sintetizada se transporta a través del aparato de Golgi donde se glicosila y, aproximadamente, dobla su tamaño. Esta glicoproteína se denomina gp160 y será procesada por una proteasa para formar la glicoproteína de superficie gp120 y la proteína transmembrana gp41, pero ambas permanecen unidas estructuralmente (esencial para la infectividad del virus). Estas proteínas maduras se transportan a la superficie de la célula infectada.

El ensamblaje del núcleo del virión compuesto del RNA genómico, proteínas modificadas del virus y enzimas, tiene lugar en la membrana plasmática **(Figura 9)**. Los viriones maduros se forman por gemación a través de la membrana plasmática, al tiempo que adquieren las glicoproteínas de la cubierta externa (gp120) y transmembrana (gp41). En adición a los componentes codificados por el virus, los viriones también incorporan otras proteínas no virales, como antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad y ciclofilina. No se conoce el papel, si es que tienen alguno, que estos factores pueden desempeñar en el ciclo de replicación.

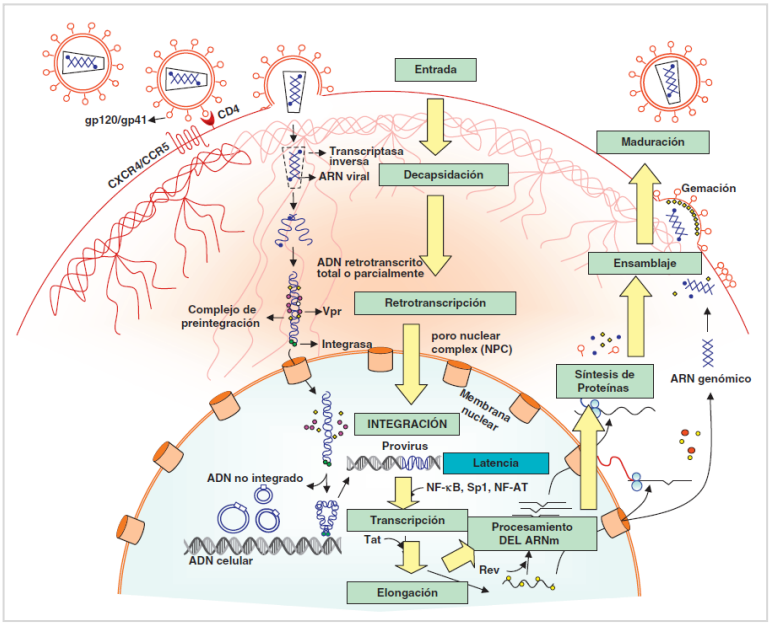


Figura 9. Ciclo biológico del HIV. La figura muestra el ciclo replicativo del HIV-1. (1) Las proteínas gp120 y gp41 van a mediar la adhesión y entrada del virus. (2) La cápsida del virus es liberada en el citoplasma de la célula diana. (3) Una vez en el citoplasma, el contenido de la cápsida (integrasas, proteasas, RT, RNA) es liberado. La retrotranscriptasa viral sintetiza ADN a partir de RNA viral. (4) El complejo ADN-integrasa migra al núcleo, se produce una escisión en el ADN celular y el ADN proviral se integra de manera no específica de sitio. (5) El nuevo RNA sintetizado pasa a usarse como RNA genómico y también para producir algunas proteínas virales. (6) El RNA, las proteínas virales y otros componentes, migran a la superficie celular para formar un nuevo, pero todavía inmadura, virión. (7) El virus se desprende de la célula hospedadora por gemación, incorporando las proteínas gp120 y gp41 en la bicapa lipídica. La maduración del virus tiene lugar después de su desprendimiento, por cortes proteolíticos en la partícula viral.

5. Patogénesis

En la mayoría de individuos, la infección por HIV lleva consigo una destrucción gradual de linfocitos T $CD4^+$ por lo que se desarrolla una disfunción inmunológica y por ello aparecen infecciones oportunistas que son el la característica del SIDA. En muchos casos la progresión al SIDA ocurre después de un periodo prolongado de estabilidad clínica que dura alrededor de 8 a 10 años. Sin embargo, en un número pequeño de personas, la progresión de la enfermedad ocurre rápidamente entre 1 y 3 años después de la infección.

La infección con HIV-2 puede también causar SIDA, pero el periodo de progresión clínica es considerablemente más largo, lo que sugiere que puede ser menos virulento.

A pesar de la variación en la velocidad de progresión clínica, durante la infección por HIV-1 se distinguen tres etapas: infección primaria o fase aguda, infección clínicamente asintomática o fase crónica, y progresión sintomática de la enfermedad), en las cuales, incluso en la fase asintomática, el virus estará replicándose continuamente.

5.1 Fase aguda o infección primaria

Esta primera etapa se caracteriza por un periodo de replicación explosiva del virus. Estimaciones cuantitativas de la carga viral durante este tiempo indican que los niveles de HIV-1 circulantes pueden alcanzar 10^7 partículas/ml de plasma, comparable o mayor a la que se alcanza en individuos con SIDA avanzado. A pesar de ello, muchos individuos permanecen asintomáticos, mientras que otros tienen síntomas parecidos a la gripe, incluida fiebre.

Esta etapa termina unas pocas semanas después de la exposición al virus cuando el sistema inmune crea anticuerpos específicos de HIV y hay seroconversión. Los niveles de virus en la circulación también decrecen drásticamente durante este periodo, lo que sugiere que los mecanismos inmunitarios del hospedador controlan eficientemente la replicación del virus y disminuyen la carga viral.

El control de la viremia durante la infección primaria probablemente requiere de las respuestas humoral y celular del sistema inmunitario. Los anticuerpos frente a HIV-1 pueden contribuir a reducir los niveles de virus circulantes bien directamente a través de la neutralización de virus, o indirectamente a través de la formación de inmunocomplejos que son después limpiados por el sistema reticuloendotelial. Los linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos de HIV-1 pueden actuar eliminando células infectadas por HIV y suprimir la replicación a través de la secreción de citoquinas antivirales.

Estudios longitudinales en muestras de sangre tomadas durante la infección primaria indican que la actividad CTL específica coincide temporalmente con una bajada rápida en la viremia, lo que sugiere que la inmunidad celular desempeña un papel crítico en la restricción inicial de la replicación vírica. Por lo contrario, los anticuerpos capaces de neutralizar la infectividad del virus aparecen más tarde, cuando los niveles ya han bajado significativamente de la circulación.

A pesar de que las respuestas inmunes antivirales sean bastante eficientes en ningún momento la replicación del virus es totalmente controlada. Esto es por la gran capacidad que tiene el virus de generar variabilidad, como veremos en la generación de resistencia a fármacos.

En la mayoría de infectados la carga del virus en el plasma se estabiliza después de la infección aguda. Este “plateau” varía considerablemente de persona a persona, pero generalmente se encuentra entre 10^3 a 10^5 copias de RNA vírico/ml de plasma.

Los niveles de HIV-1 en el plasma después de la infección primaria son predictivos de la velocidad de progresión de la enfermedad. Los niveles que exceden 10^5 copias/ml después de la seroconversión indican una progresión rápida hacia la enfermedad, mientras que los niveles por debajo de 10^3 copias/ml se asocian a un curso clínico más estable.

5.2 Fase crónica o asintomática

Tras la fase aguda, muchos individuos entran en un periodo asintomático de duración variable (con una media de 9 años) que se caracteriza por niveles bajos de antígenos HIV-1 en la sangre periférica y relativamente pocas manifestaciones clínicas. Se sabe ahora que la latencia clínica no significa una latencia viral. Los niveles plasmáticos de RNA HIV-1 se encuentran en el rango 10^3-10^6 copias/ml. Sin embargo, los títulos de virus infecciosos son varios órdenes de magnitud menor, indicando que muchos de los virus plasmáticos son defectivos, deteriorados o neutralizados.

La frecuencia de linfocitos T $CD4^+$ circulantes que contienen DNA de HIV-1 se estima entre 1 en 1.000 a 1 en 100.000 células en individuos asintomáticos, mientras que en pacientes con SIDA, la frecuencia puede alcanzar con facilidad 1 en 100 células. Además, en la fase crónica la mayoría de los linfocitos T infectados por el virus se encuentran latentes y solo hay replicación activa del virus en el 1% de ellos.

Se produce una reducción drástica en la cantidad de virus libre en la circulación y un aumento en el número de células T $CD4^+$ en aquellos individuos infectados por el virus que en esta etapa son tratados con fármacos anti-HIV. Mediante extrapolación a partir de estos cambios de viremia, se ha estimado que más de 10^9 viriones son producidos y retirados de la circulación por día en una persona infectada.

Alrededor de 10^8 linfocitos T-$CD4^+$ son destruidos diariamente por el HIV. Para mantener el número de células T $CD4^+$ circulantes, el sistema inmunitario debe responder reponiendo la población de linfocitos, lo que conduce a un recambio rápido y constante, lo que hace que los individuos se mantengan bastante estables durante periodos prolongados; lo que refleja la estabilidad del sistema inmunitario para proveer nuevas células $CD4^+$. Aunque este balance puede ser mantenido durante muchos años, al final se produce una pérdida progresiva de células T $CD4^+$ con el consiguiente deterioro de la función inmunitaria.

5.3 Fase enfermedad

Cuando el nivel de células T $CD4^+$ cae por debajo de 200 células por milímetro cúbico de sangre, se dice entonces que la persona tiene el SIDA (tener en cuenta que una persona sin infectar tiene alrededor de 1000 linfocitos T $CD4^+$ por microlitro de sangre).

La bajada en los niveles de células T $CD4^+$ acompañado de infecciones oportunistas y desarrollo de tumores, es signo de progreso de la enfermedad.

En algunos pacientes, los contajes de células T $CD4^+$ declinan gradualmente a lo largo de la infección, mientras que otros experimentan una caída brusca después de un periodo de relativa estabilidad.

Análisis longitudinales demuestran que los niveles de virus presentes en la sangre periférica aumentan antes del comienzo del SIDA, indicando que la carga viral está directamente relacionada con el deterioro inmunológico y clínico del paciente.

El virus alcanza un máximo de variabilidad genética. La diversidad dentro del genoma viral aumenta a través de la infección, alcanzando un "plateau" en el momento de una depleción significativa de las células T $CD4^+$. Incluso durante la infección clínica asintomática, los pacientes pueden albergar hasta un millón de variantes genéticamente distintas.

Gracias a estudios filogenéticos se sabe qué través del curso de la infección, aparecen oleadas de nuevas cuasiespecies virales, sólo para ser eliminadas y reemplazadas por poblaciones nuevas. Es probable que la progresión de la enfermedad esté unida a la emergencia de variantes con incrementada virulencia o, alternativamente, variantes que pueden escapar a la detección del sistema inmunitario.

Además de la destrucción de linfocitos T $CD4^+$, los individuos infectados por HIV-1 exhiben defectos en otros apartados del sistema inmunitario. Estas otras alteraciones del sistema inmunitario son la activación descontrolada de linfocitos B lo que produce elevadas cantidades de autoanticuerpos, la actividad citotóxica de las células NK ("*natural killer*") está disminuida y el deterioro de la función de APCs ("*antigen-presenting cells*"). También se muestran niveles elevados de IL-6 y TNF-α, estas citoquinas estimulan la expresión de HIV-1 *in vitro* y pueden actuar aumentando la expresión del virus en células infectadas al tiempo que modulan la activación de otras células inmunitarias. A pesar de la bajada en células $CD4^+$, hay un aumento de linfocitos T $CD8^+$, sin embargo, la ausencia de ayuda de las células T $CD4^+$ hace que la actividad citotóxica específica de HIV-1 mediada por células T $CD8^+$ esté a menudo reducida o ausente en pacientes de SIDA.

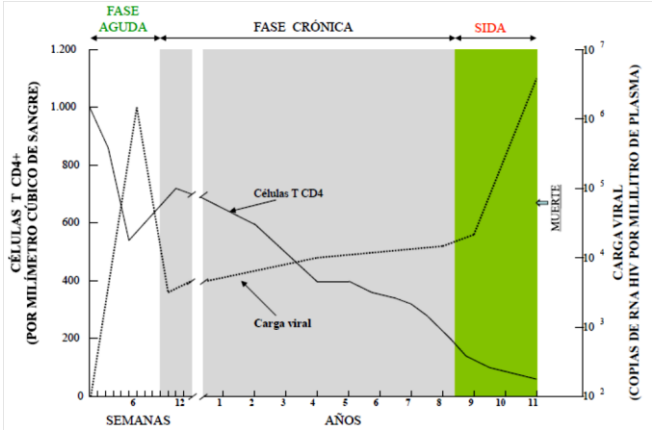


Figura 10. Resume el curso de la patogénesis del SIDA. Se distinguen las tres fases de la patología: fase aguda, fase crónica y fase enfermedad. También se muestran la destrucción progresiva de células T $CD4^+$ a lo largo del desarrollo de la enfermedad (por debajo de 200 células por milímetro cúbico de sangre, se dice que la persona tiene el SIDA) y el progreso de carga viral (con picos altos de viremia en la fase aguda y en la fase enfermedad), todo ello en el desarrollo en el tiempo (de semanas a años).

5.4 Resistentes de larga duración

Un pequeño número de individuos infectados con HIV-1 han sido identificados que se mantienen clínica e inmunológicamente sanos a pesar de infecciones entre 5 y 20 años. Estos individuos se han llamado sobrevivientes de larga duración o "supresores de elite" ("*elite suppressors*"), y son capaces de controlar la replicación del HIV-1 sin tratamiento. Por ello, son el foco de considerables esfuerzos de investigación encaminados a elucidar los factores del hospedador y virales que pueden contribuir a la atenuación de la progresión de la enfermedad.

Se sabe que estos individuos tienen una carga viral considerablemente más baja que la encontrada en pacientes que progresan hacia el SIDA, ya que tienen una respuesta inmune anti-HIV muy activa, incluyendo anticuerpos neutralizantes y una potente actividad antiviral por parte de las células T $CD8^+$.

Además, las cepas de virus aisladas de estos pacientes a menudo se replican pobremente en cultivo, lo que sugiere que pueden haber sido infectados por una cepa debilitada o atenuada del virus.

Es probable que la combinación de un virus debilitado acoplado con una respuesta inmunitaria fuerte altere el balance entre el virus y el hospedador en una forma que al final favorezca al hospedador.

6. Los receptores de quimioquinas y la infección por HIV-1

La noción de que un correceptor era necesario para la entrada de HIV-1 se dedujo del hecho de que la expresión de CD4 no era suficiente para explicar el tropismo de HIV-1 *in vitro*. Dos datos experimentales condujeron a esta conclusión:

- Por un lado, una serie de experimentos utilizando la proteína CD4 humana, indicaron que este receptor permitía la infección (fusión y entrada) mediada por Env, pero sólo cuando era expresada en algunos tipos de células humanas. Aunque no se podía descartar la existencia en las células no humanas de un factor inhibidor de la fusión.
- El segundo fenómeno experimental fue el descubrimiento de distintos tropismos mostrados por diferentes aislados de HIV-1 en relación con el tipo celular de células CD4 humanas. Todas las cepas HIV-1 infectan y se replican en linfocitos T $CD4^+$ primarios. Sin embargo, algunos aislados infectan eficientemente a líneas celulares T $CD4^+$ pero pobremente a macrófagos primarios. Estos virus se denominaron como de tropismo por líneas celulares T o **TCL-trópicos**. Por el contrario, otras cepas HIV-1 infectaban macrófagos primarios más eficientemente que líneas celulares T. Éstos se denominaron **M-trópicos**.

El hecho de que las cepas de HIV-1 sean TCL- o M-trópicos tiene importantes implicaciones en la transmisión y patogénesis del virus. Los aislados obtenidos de sangre periférica de individuos recientemente infectados o durante la fase asintomática son predominantemente M-trópicos; cuando la infección progresa a SIDA, son los virus TCL-trópicos los que se aíslan con más frecuencia.

Todos estos datos llevaron a postular que la clave para entender el tropismo y la entrada del HIV estaría en la identificación de unas moléculas correceptoras, lo que se logró en el año 1996.

6.1 Identificación de los correceptores

El primer correceptor HIV-1 se identificó empleando una genoteca de cDNA humana para transfectar una línea de ratón que expresaba CD4, aislando el clon de cDNA que confería a estas células la capacidad de ser infectadas. Lo que se analizó en realidad fue la capacidad de formar sincitios (células multinucleadas) con células que expresaban la proteína producto del gen *Env*. La formación de sincitios, debido a la fusión de células T $CD4^+$ infectadas con no infectadas, es uno de los daños colaterales producidos por la infección con HIV-1.

El análisis de secuencia de este clon indicó que codificaba para un miembro de la superfamilia de receptores de siete segmentos transmembrana acoplados a proteína G **(Figura 11).** Esta proteína, denominada "fusina" funcionaba con cepas HIV-1 TCL-trópicas, pero no con las M-trópicas. Así, "fusina" cumplía los criterios para ser considerado el correceptor de las cepas HIV-1 TCL-trópicas.

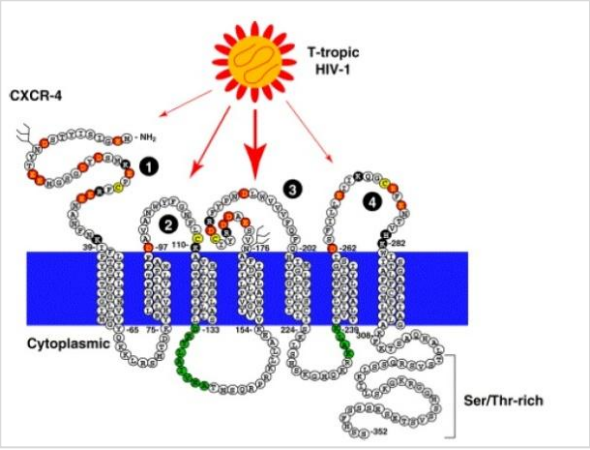


Figura 11. Secuencia primaria y topología de membrana de CXCR4. En esta figura están representados determinados residuos de los dominios extracelulares, incluyendo cisteínas (amarillo), residuos ácidos (rojo), residuos básicos (negro) y sitios de N-glicosilación (estructuras ramificadas). Los dominios involucrados en la unión de proteína G se representan en verde. Las cepas T-trópicas y de tropismo dual van a interaccionar con los cuatro dominios extracelulares (numerados de 1 al 4), aunque estudios han indicado que el tercer bucle extracelular es la región más importante seguida por el segundo bucle extracelular. En relación a CCR5, los bucles 1 y 4 son menos importantes en la actividad de correceptor.

Dentro de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G se encuentran los receptores de quimioquinas. Las quimioquinas son pequeñas proteínas (70-90 aminoácidos) con actividad quimiotáctica para leucocitos; son secretadas por diversas células del sistema inmunitario y desempeñan papeles fundamentales en la activación de leucocitos y su movilización hacia los sitios de inflamación. Existen dos clases mayoritarias de quimioquinas en humanos que se denominan de acuerdo con la estructura de los motivos cisteína del extremo N-terminal:

- Quimioquinas CXC; las dos primeras cisteínas están separadas por un aminoácido.
- Quimioquinas CC; las dos primeras cisteínas están adyacentes.

En 1995, Cocchi et al., encontraron que ciertas quimioquinas CC (RANTES, MIP-1α y MIP-1β) eran potentes inhibidores de la infección de cepas HIV-1 M-trópicas pero no de las CTL-trópicas. Esto llevó a la caracterización del receptor de quimioquinas responsable de este efecto que se designó como CCR5 (el quinto receptor para quimioquinas tipo CC).

Poco después, se encontró que la "fusina" es receptor para quimioquinas CXC tales como SDF-1α y SDF-1β, y fue renombrada como receptor de quimioquinas CXCR4 (cuarto receptor para quimioquinas CXC).

6.2 Modelo para explicar el tropismo de HIV-1

Este modelo **(Figura 12)** indica que:

- Las cepas de HIV-1 TCL-trópicas utilizan el correceptor CXCR4, por lo que se les denomina como cepas X4.
- Las cepas de HIV-1 M-trópicas prefieren el correceptor CCR5, y se les asigna el nombre de cepas R5.
- Las cepas de HIV-1 de tropismo dual pueden utilizar ambos correceptores y se les considera un paso intermedio en la evolución de las cepas M-trópicas hacia las TCL-trópicas. Se les asigna el nombre de cepas R5X4.

Las líneas celulares T expresan CXCR4, los macrófagos primarios CCR5, y las células T primarias de la sangre periférica expresan ambos.

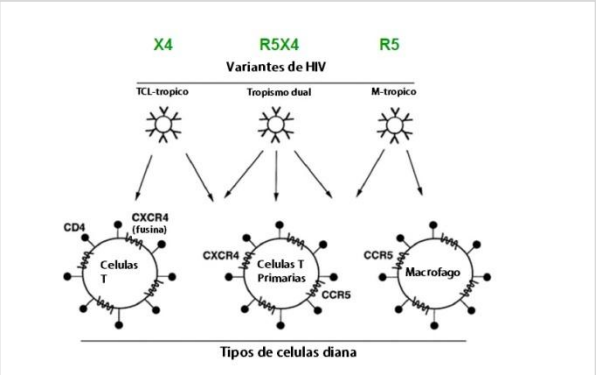


Figura 12. Modelo para explicar y el tropismo de HIV-1 en base al uso de correceptor. Las cepas TCL-trópicas son específicas para CXCR4 y pueden infectar líneas celulares T $CD4^+$ y células T $CD4^+$ primarias. Las cepas M-trópicas son específicas para CCR5 y pueden infectar macrófagos primarios y células T $CD4^+$ primarias. Las cepas de tropismo dual pueden usar ambos correceptores, por lo que pueden infectar todas las células mencionadas anteriormente.

6.3 Mecanismo de fusión y entrada de HIV-1 mediada por los correceptores

La entrada de HIV en la célula hospedadora es un proceso complejo. En la primera etapa, se produce la interacción entre la molécula CD4 y la glicoproteína gp120. CD4 es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Se expresa en la membrana de monocitos, macrófagos, algunas subseries de linfocitos T y en células dendríticas.

El sitio de unión a CD4 implica a regiones conservadas y carentes de carbohidratos de gp120. La unión de gp120 a CD4 induce grandes cambios conformacionales en gp120 que conducen a la exposición en superficie de los lazos V1/V2 y V3, responsables de la interacción con el correceptor. Sólo después del cambio conformacional, gp120 se une al correceptor. La unión de gp120 al correceptor promueve nuevos cambios conformacionales en la proteína gp120 que conducen a la activación de gp41 a un estado activo de fusión. El péptido de fusión de la proteína gp41 se inserta en la membrana de la célula blanco, formándose un estado intermedio en el que gp41 está unida simultáneamente a la membrana celular y a la del virus.

Una vez que se produce la inserción del péptido de fusión, las regiones HR1 y HR2 de gp41 experimentan un reordenamiento por el que terminan plegadas una sobre la otra. Este reordenamiento estructural aproxima la región transmembrana de la gp41, que está embebida en la membrana viral, al péptido de fusión, que está insertado en la membrana celular. Esta yuxtaposición conduce a la formación de un poro de fusión, lo que permite a la cápsida viral entrar en la célula **(Figura 13)**.

La estrategia de interacción con el receptor en dos etapas permite al HIV-1 el mantener la superficie de unión al correceptor, que está muy conservada, en una conformación críptica, quedando sólo expuesta tras la interacción de gp120 con CD4. Esto da una serie de ventajas al virus, como la evasión del sistema inmune.

Durante mucho tiempo, se pensó que el proceso de entrada del HIV tenía lugar a nivel de la membrana plasmática de la célula. Sin embargo, datos recientes sugieren que es necesaria la inducción de un proceso endocítico de las partículas virales para que tenga lugar una fusión total.

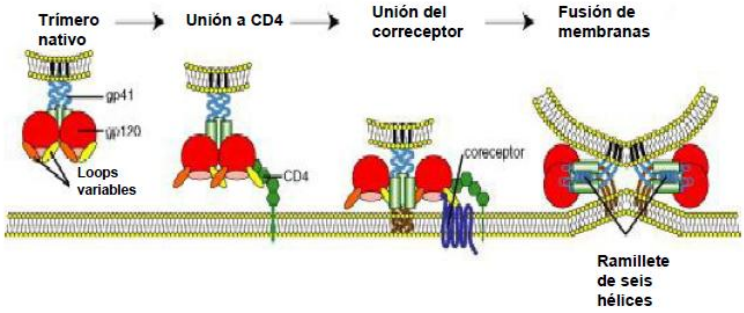


Figura 13. Modelo para ilustrar las interacciones que ocurren en el proceso de entrada del HIV. CD4 y las moléculas correceptoras están localizadas en la membrana del hospedador (abajo), mientras que las proteínas gp120 y gp41 están asociadas a la membrana viral (curvada, arriba). La entrada del HIV es iniciada por el anclaje de gp120 a CD4, que provoca cambios conformacionales en gp120, dejando expuesta la región de interacción con el correceptor. El complejo correceptor-gp120 sufre otra serie de cambios conformacionales que permiten la inserción del péptido de fusión de gp41 en la membrana de la célula. La interacción entre los dominios HR1 y HR2 conduce a aproximar la membrana viral y la del hospedador, creando un poro de fusión que permitirá la entrada de la cápsida del HIV en la célula hospedadora.

6.4 Los correceptores y la enfermedad causada por el HIV-1

Las variantes M-trópicas se encuentran tras la infección y durante todas las etapas de la enfermedad, mientras que las cepas TCL-trópicas y duales se detectan en las etapas finales de la enfermedad **(Figura 14)**. Estos resultados sugieren que el correceptor CCR5 va a ser importante para la transmisión viral mientras que el CXCR4 va a ser importante en las etapas de progresión a enfermedad.

Un problema importante es la relación entre el uso de correceptores y la depleción de células T $CD4^+$ que ocurre durante la enfermedad **(Figura 14)**. Se ha visto que las cepas R5X4 y X4 son generalmente más citopáticas *in vitro* que las cepas R5, sugiriendo la posibilidad de que el uso de CXCR4 puede contribuir, de forma directa o indirecta, a la muerte de la célula blanco.

Existen varias razones para explicar por qué la infección se produce a través de las cepas M-trópicas y no las TCL-trópicas. Una de las respuestas se encuentra en que la principal vía de transmisión es: la transmisión sexual. En la transmisión por vía sexual, la primera diana del virus es el sistema linfoide difuso asociado a mucosas. Además del CD4, los linfocitos situados en los nichos linfoides de la submucosa presentan el correceptor CCR5 en la superficie. Por el contrario CXCR4, el otro correceptor viral, no se expresa en la membrana ya que las células dendríticas y de Langerhans producen su ligando, la quimioquina SDF-1, que induce la endocitosis del receptor CXCR4.

Existe, además, un dato genético que evidencia la importancia del correceptor CCR5 para la transmisión del virus: el descubrimiento en la población humana de un alelo CCR5 mutante, denominado CCR5Δ32, que confiere resistencia a la infección por HIV-1. El gen CCR5Δ32 tiene una deleción de 32 pares de bases en la región codificante del segundo lazo extracelular que produce un cambio de fase y una parada prematura. La proteína truncada no se expresa en la superficie celular.

Esta mutación fue descubierta por aparecer, en homocigosis (CCR5Δ32/ CCR5Δ32), en dos homosexuales de alto riesgo, llamados fenotipo EU ("*exposed-uninfected*"), que permanecían no infectados. Estudios posteriores, indicaron la existencia de una elevada frecuencia de esta mutación entre individuos EU, mientras que no se encontró esta homocigosis entre miles de individuos infectados.

Finalmente, experimentos *in vitro* demostraron una absoluta correlación con los datos de población: los linfocitos de sangre periférica de homocigotos CCR5Δ32/ CCR5Δ32 son susceptibles a la infección por virus X4, pero completamente resistentes a la infección por virus R5.

Aunque los heterocigotos CCR5Δ32 no son resistentes a la infección por HIV, la progresión a enfermedad es mucho más lenta, posiblemente como una consecuencia de unos niveles reducidos de expresión de CCR5.

Una cuestión interesante está en relación con el origen de la mutación CCR5Δ32. Esta mutación es muy común entre las poblaciones caucásicas, se encuentra con menores frecuencias en el Oriente Medio e India, y sólo aparece esporádicamente entre africanos, amerindios y asiáticos. Así, entre los caucasianos, esta mutación se encuentra en homocigosis en aproximadamente el 1% de la población y en torno al 20% en heterocigosis.

Análisis de haplotipos indicaron que el alelo CCR5Δ32 se ha originado recientemente, hace unos 700 años en el norte de Europa. El que esta mutación se extendiera rápidamente sólo se explica en el caso de que confiriese una clara ventaja frente a un factor de selección, posiblemente una epidemia catastrófica. Basado en el tiempo y en el lugar de la fijación de esta mutación, se ha sugerido a la peste bubónica como el factor más plausible de esta selección.

No obstante, cabe mencionar que también se han descrito otros individuos EU que no tienen el genotipo CCR5Δ32. En algunos individuos se ha encontrado una asociación entre el fenotipo EU (tanto en homosexuales como hemofílicos) y unos niveles elevados de quimioquinas CC endógenas (MIP-1α, MIP-1β y RANTES) que bloquean el correceptor CCR5.

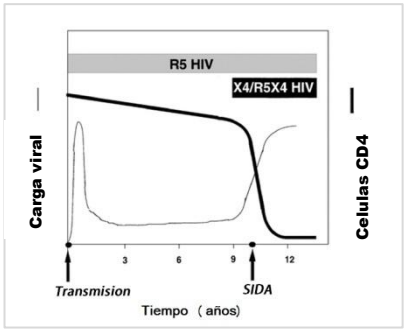


Figura 14. Evolución temporal del tropismo de HIV-1 durante la patogénesis. La transmisión de HIV-1 se produce a través de variantes R5, que persisten durante el periodo asintomático así como después de la aparición del SIDA. En muchos, aunque no en todos los individuos, aparecen variantes X4 y R5X4 cuando se observan los primeros síntomas que definen al SIDA.

6.5 Señalización a través de los correceptores inducida por el virus

La señalización a través de los receptores de quimioquinas está acoplada a distintas vías que median la migración celular, la activación transcripcional y el crecimiento y diferenciación celular (**Figura 15**).

Diversos datos experimentales han puesto de manifiesto que, al igual que las quimioquinas (SDF-1 y RANTES), las cubiertas de virus T- y M-trópicos inducen fosforilación de tirosinas en la proteína tirosín-quinasa Pyk2. Estos datos indican que la unión de la cubierta del virus a los correceptores CXCR4 y CCR5 no solo media la entrada sino que también activa múltiples cascadas de señalización intracelular, un proceso que mimetiza la señalización por las quimioquinas. Así, se ha visto que la unión de gp120 de HIV-1 a CCR5 o CXCR4 dispara la activación de Pyk2, PI3K, Akt, Erk-1/2, y la activación del factor de despolimerización de actina, cofilina **(Figura 16).**

Además, se ha demostrado que la señalización a través de los correceptores de quimioquinas es una función independiente, no necesariamente ligada a los procesos de entrada y replicación del virus.

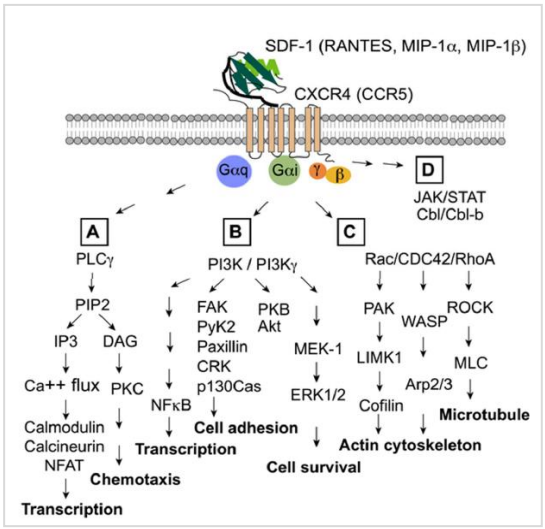


Figura 15. Rutas de señalización de los receptores de quimioquinas.

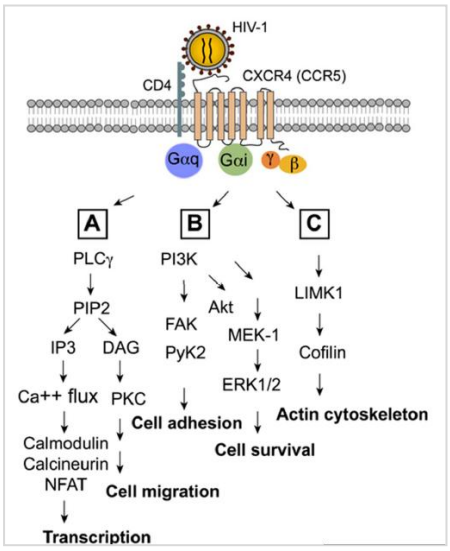


Figura 16. Componentes de las rutas de señalización de los receptores de quimioquinas activados por la envuelta del HIV-1.

7. Efectos del virus sobre el sistema inmunitario

La principal ruta de transmisión del virus es a través de las relaciones sexuales. A partir de estudios en macacos con el virus de la inmunodeficiencia de simios (SIV) se ha conseguido mucha información acerca de los primeros eventos que se producen en el proceso de infección. Así las primeras células blanco del virus que se detectan son los linfocitos T $CD4^+$ de memoria que expresan el receptor CCR5 (correceptor para el virus).

Una semana post-infección, el virus se detecta en los nódulos linfáticos, adonde parece ser transportado por células dendríticas (DC) y células de Langerhans, células muy abundantes en los epitelios, punto de entrada del virus.

Se produce una masiva producción de los virus en los nódulos linfáticos drenantes cuando las células T entran en contacto con las DC, resultando simultáneamente activadas e infectadas.

En este momento, el virus alcanza el torrente sanguíneo desde donde alcanzará otros sitios, particularmente los tejidos linfáticos asociados al intestino (GALT, *"gut-associated lymphoid tissues"*) donde residen grande números de células T de memoria.

Actualmente se sabe que los primeros y más importantes daños causados por la infección del virus se detectan en los órganos linfoides GALT.

Es en estos órganos dónde se produce otra gran expansión del virus, aproximadamente el 20% de las células T situadas en los tejidos GALT resultan infectadas y el 80% destruidas de forma colateral como consecuencia de la inducción de procesos apoptóticos (mediados probablemente por Fas ligando). De hecho, la depleción de células T $CD4^+$ en los GALT es mucho más acusada que la imagen derivada del análisis de la sangre periférica.

La carga viral detectada en la sangre periférica alcanza un pico como consecuencia de la replicación explosiva del HIV-1. Éste pico de viremia se alcanza alrededor del día 21, llegando a niveles por encima de 10^7 partículas víricas por mililitro de plasma.

Poco antes de la seroconversión se produce un descenso pronunciado de la viremia, consecuencia, según se piensa, de la aparición de células T $CD8^+$ citotóxicas específicas del HIV.

Coincidiendo con el pico de viremia, los linfocitos T $CD8^+$ específicos para HIV se expanden hasta suponer el 10% de todas las células T $CD8^+$ circulantes.

Tenemos otros dos factores que contribuyen al descenso de la viremia.

1) Aunque los anticuerpos neutralizantes sólo aparecen varias semanas o meses después, los anticuerpos producidos en este momento, en combinación con factores del sistema inmunitario innato, tales como el complemento, van a ayudar a la opsonización y eliminación del virus.
2) La depleción de células T $CD4^+$ $CCR5^+$ en el intestino es tan severa que no hay suficientes nuevas células blanco para que el virus mantenga una viremia tan elevada.

Se desconoce todavía cómo el virus HIV-1 va minando continuamente al sistema inmunitario hasta que éste deja de ser suficientemente operativo en su función protectora frente a la infección por patógenos.

La mayoría de los virus que infectan a humanos, son retirados pronto en las fases agudas o establecen un equilibrio con el sistema inmunitario del hospedador que les permite persistir largo tiempo, pero sin causar daños en el hospedador.

Algunos ejemplos de estos últimos son el citomegalovirus (CMV), el virus Epstein-Barr (EBV) o los herpes virus. Por el contrario, el HIV-1 es extremadamente nocivo y de una manera paulatina termina deteriorando al sistema inmunitario del hospedador.

La cuestión por resolver es, por tanto, ¿qué tiene el HIV que le hace diferente a la mayoría de los patógenos que infectan a humanos? Posiblemente la respuesta se encuentra relacionada con sus células blanco, los linfocitos ayudadores Th $CD4^+$. Existen varios tipos de células T $CD4^+$ que, junto a los productos solubles que secretan, regulan las actividades de las células T citotóxicas $CD8^+$, la diferenciación de los linfocitos B y el cambio de isotipo de inmunoglobulina, y la inducción de inmunidad frente a tolerancia.

Lógicamente, la depleción de este tipo de células va a tener consecuencias graves en la función inmunitaria. La disminución progresiva de células $CD4^+$ es una característica de la infección por HIV-1 y, de hecho, la determinación del número de estas células en sangre se utiliza como indicador del progreso de la infección hacia la enfermedad (SIDA).

No obstante, el número de células T $CD4^+$ infectadas por HIV-1 en la sangre durante la fase crónica de la infección es sólo 0,01-0,10%, demasiado bajo como para explicar su eliminación bien por lisis directa o retirada por el sistema inmunitario.

Además, las células T $CD4^+$ en la circulación sanguínea representan sólo el 1-2% del total de estas células en el hospedador. Para explicar el declinar de linfocitos T $CD4^+$ se han invocado varios mecanismos patológicos, entre los que cabe destacar la activación de la muerte celular y la pérdida gradual de la capacidad de regenerar linfocitos T. **(Figura 17).**

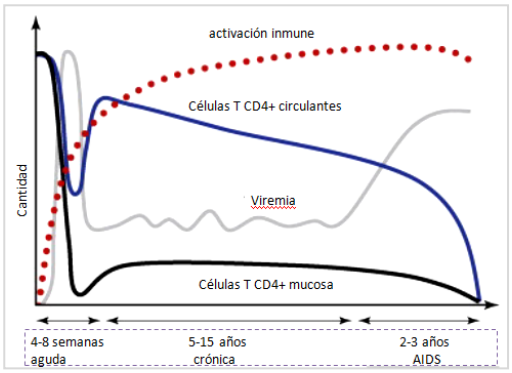


Figura 17. Variación de las poblaciones de linfocitos T $CD4^+$ en el curso de la patogénesis asociada a la infección por HIV1. En el esquema se muestra la evolución la fuerte depleción de los linfocitos T $CD4^+$ asociados a la mucosa intestinal (línea negra) en relación a la evolución de los linfocitos T $CD4^+$ circulantes (línea azul) y la evolución de la viremia (línea gris). La línea de puntos rojos muestra el nivel de activación del sistema inmunitario en el curso de la infección.

Los mecanismos **(Figura 18)** que gobiernan la fusión de las membranas celulares, viral y del hospedador, también gobiernan la fusión entre células infectadas que expresan la gp120 sobre su superficie y las células T $CD4^+$ no infectadas. La fusión de células infectadas y no infectadas conduce a la formación de células gigantes multinucleadas de vida corta llamadas sincitios. A pesar de que los sincitios se forman reproducibilemente *in vitro* y las células infectadas normalmente mueren en pocos días, no es claro si éste representa el mecanismo primario para la depleción de linfocitos $CD4^+$ observada *in vivo*.

Otros mecanismos han sido también implicados en la depleción de linfocitos T $CD4^+$, entre los que se incluye la citotoxicidad sobre las células infectadas ejercida por los linfocitos T $CD8^+$ específicos de HIV-1. Pero también tenemos otros como la citotoxicidad mediada por células y dependiente de anticuerpos de las células infectadas o de células no infectadas que tienen absorbido la proteína gp120 al receptor $CD4^+$.

La gp120 está implicada también en inducir apoptosis de células T $CD4^+$ a través de la vía Fas-FasL . Por otro lado, estudios recientes implican al IFN-α en la depleción de células T $CD4^+$ a través del siguiente mecanismo. La presencia de IFN-α induce la expresión de las formas solubles, y asociada a membrana, de TRAIL ("*TNF-related apoptosis-inducing ligand*") por las células T $CD4^+$. Paralelamente, el virus HIV-1 induce la expresión del receptor de la muerte DR5 sobre las células T $CD4^+$. La interacción de TRAIL con DR5 induce la apoptosis selectiva de células T $CD4^+$ pero no de linfocitos T $CD8^+$.

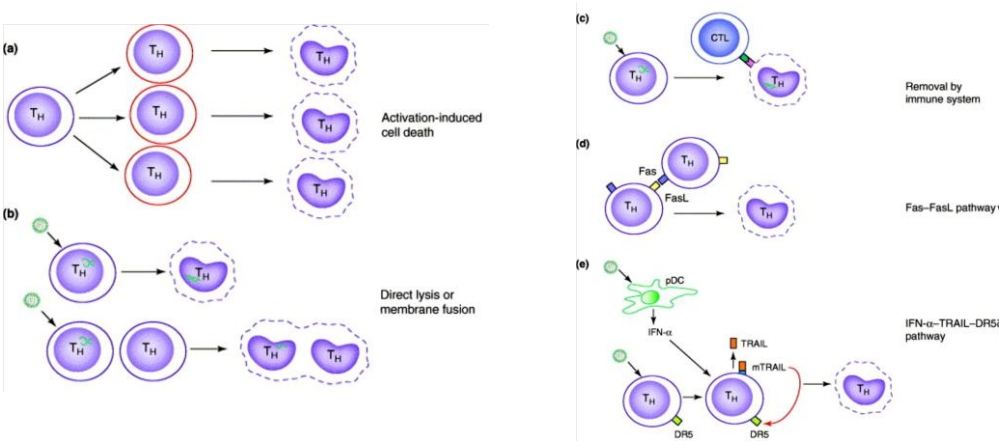


Figura 18.

a) Efecto natural de la respuesta inmunitaria, cuando se activa los linfocitos empiezan a proliferar. El SI a continuación desencadena un proceso homeostático, el exceso de linfocitos es destruido. No es propio del HIV pero hay que tenerlo en cuenta.
b) El virus infecta los linfocitos Th, expresa en su membrana gp120; la cual es reconocida por otro linfocito que interacciona con su receptor $CD4^+$, interpretando que se trata de un virus. Se fusionan ambas membranas y tenemos células multinucleadas, sincitios. Las células infectadas son células gigantes que han resultado de la fusión de linfocitos infectados con linfocitos sanos.
c) La propia defensa: un linfocito infectado es blanco de los linfocitos CTL; pero además desencadena, debido a la presencia de gp120 en su membrana, la respuesta mediada por anticuerpos ADCC.
d) La gp120 y las partículas subvirales pueden desencadenar procesos apoptóticos por medio de la vía Fas-FasL, produciendo daños en el SI.
e) Otra vía apoptótica es la mediada por TRAIL. Cuando una célula dendrítica interacciona con el HIV por medio de los TLR produce IFN-α . Este factor conduce a la expresión de los linfocitos Th de la proteína TRAIL tanto solubles como unidos a la membrana.

Los componentes del virus también producen la expresión del receptor de TRAIL (DR5), que interacciona con el ligando TRAIL. Como consecuencia de esta interacción se desencadena también la apoptosis.

Resumiendo, la casi completa eliminación de células T $CD4^+$ de memoria (que expresan CCR5) en los tejidos linfoides de las mucosas durante la etapa inicial de la infección por HIV-1 va a interferir con las importantes funciones, reguladoras y efectoras, que estas células tienen para el control de las respuestas inmunitarias frente a antígenos y patógenos. La retirada de células T $CD4^+$ de memoria de los tejidos de las mucosas es compensada en parte por la producción aumentada y migración de linfocitos T $CD4^+$ de vida corta; sin embargo, este mecanismo compensatorio del timo puede dejar de funcionar de forma eficaz. Por otro lado, en ausencia de la ayuda de linfocitos T $CD4^+$, las respuestas de células T $CD8^+$ y anticuerpos frente a las nuevas variantes del HIV-1 son débiles y retrasadas, lo que resulta en una multiplicación aumentada del virus.

8. Diagnóstico.

En la infección por HIV es muy importante tener un diagnóstico bueno y fiable. Los sistemas de diagnóstico son los mejores que existen comparados con otras enfermedades.

Los costes económicos, sociales y psicológicos causados por falso positivos y falsos negativos para la infección HIV han empujado a los investigadores y fabricantes a desarrollar tests de diagnóstico de alta sensibilidad y especificidad. No obstante por definición no existe un sistema de diagnóstico totalmente fiable, y , por tanto, todo método lleva asociada la posibilidad de dar un resultado erróneo.

El diagnóstico de la infección puede hacerse mediante la detección de antígeno o anticuerpo con tests serológicos, mediante aislamiento del virus o por detección de secuencias de nucleótidos virales.

8. 1 Test serodiagnóstico o diagnósticos serológicos.

El diagnóstico serológico es un proceso de dos etapas: los sueros que dan como resultado una reacción positiva se tienen que volver a analizar, para excluir así la posibilidad de un error en el laboratorio. Si se vuelve a obtener el mismo resultado, hay que realizar un ensayo confirmatorio para verificar que los anticuerpos reactivos están dirigidos frente a antígenos HIV. Los principales tests serológicos son:

8. 1. 1 Determinación de anticuerpos mediante ensayos ELISA

En muchos casos la infección se diagnostica mediante la presencia de anticuerpos específicos para HIV-1 o HIV-2. Los anticuerpos frente a HIV se detectan de 6 a 12 semanas de infección en la mayoría de los casos y en virtualmente todos los pacientes dentro de los 6 meses de la infección.

Los antígenos para los ELISAs de HIV-1 o HIV-2 se preparan bien a partir de lisados de células T humanas infectadas con el virus, proteínas recombinantes de HIV producidas en sistemas de expresión bacterianos o levaduras, u oligopéptidos sintetizados químicamente.

Estos tipo de tests tienen problemas de falsos positivos y falsos negativos.

Reacciones falso-positivas pueden aparecer ensayos basados en el crecimiento del propio virus sobre linfocitos de sangre periférica (ELISAs HIV-1 de primera generación), debido a la reactividad de anticuerpos dirigidos frente al antígeno de leucocitos humanos (HLA), que son expresados por las líneas celulares linfoides utilizadas para preparar los lisados virales.

- Aparecen **falsos positivos** en mujeres que han tenido varios partos o trasfusiones sanguíneas; ya que en los preparados de estos virus existen trazas del antígeno de superficie de linfocito (el HLA). Durante el parto se pone en contacto la sangre del niño y la de la madre, produciéndose anticuerpos frente a los antígenos de superficie de linfocitos del niño.

Posteriormente se han empezado a utilizar proteínas recombinantes que se producen en bacterias o en levaduras (los denominados ensayos de segunda generación). Estos ensayos que van a solventar el problema de los anticuerpos anti-HLA, tienen el potencial problema de que la reacción cruzada del suero con proteínas contaminantes de bacterias o levaduras pueden ser causa también de reacciones falso-positivas.

- **Falsos negativos**. Pueden darse en ensayos basados en antígenos recombinantes o sintéticos derivados de la proteína de la cubierta. Pueden fallar en la detección de anticuerpos del grupo O de HIV que es altamente divergente. Los anticuerpos no reconocen a los péptidos sintéticos y da un falso negativo.

Incluso con una especificidad del 99,8% para los ensayos ELISA, asumiendo una prevalencia del 0,5% de infección por HIV-1, como ocurre en la población USA, dos resultados falso-positivos se obtendrán por cada cinco individuos infectados identificados. Por esta razón, un test confirmatorio es esencial para excluir los resultados falso-positivos.

8.1.2 El test confirmatorio que se hace comúnmente es el "*Western blot*".

Detecta anticuerpos frente a las proteínas HIV-1 mayoritarias (gag, pol y env). Los anticuerpos frente a las proteínas gag (p17, p24 y p55) aparecen antes en el curso de la infección, pero decrecen en título con la progresión de la enfermedad. Mientras que los anticuerpos frente a las proteínas de la cubierta (gp160 o gp120/41) normalmente persisten incluso en etapas avanzadas de la enfermedad. (**Figura 19**).

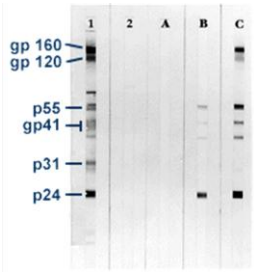


Figura 19. El "*Western-blot*" se utiliza como ensayo confirmatorio de un resultado serológico positivo. Tiras de nitrocelulosa que contienen las proteínas del HIV-1, separadas mediante electroforesis en geles desnaturalizantes de poliacrilamida, son incubadas con los sueros a ensayar. Las tiras fueron incubadas con los siguientes sueros: 1, suero policlonal frente al virus HIV-1 (control positivo); 2, se omite la incubación con suero (control negativo); A, B y C, sueros de pacientes diagnosticados inicialmente como seropositivos por ELISA.

8.1.3 Ensayo de detección de antígeno

Basado en la detección mediante un ELISA de captura de antígeno, de la presencia del antígeno gag del HIV-1 (p24). Este sistema de detección puede ser útil en el diagnóstico de la infección primaria de HIV-1, ya que en la fase aguda existen altos niveles de antígeno viral (p24) en el suero de pacientes infectados durante el intervalo previo a la seroconversión. También puede ser útil en el diagnóstico temprano de neonatos infectados con HIV-1.

Cuando se produce la seroconversión, hay anticuerpos anti p24 que se unen a p24 acomplejándolo, e impiden la interacción con el anticuerpo de captura, pudiendo enmascarar el antígeno y haciéndolo indetectable en la mayoría de los individuos infectados. Algunos estudios indican que la infección HIV es detectada por tests de antígeno p24 aproximadamente 6 días antes que con tests de anticuerpos.

8.2. Cultivo de HIV-1.

El HIV-1 puede ser aislado tras el cultivo del plasma o de células mononucleares de la sangre periférica (PBMC, *"Peripheral Blood Mononuclear Cell").* Un cultivo positivo da una evidencia directa de la infección, pero el cultivo del virus es rara vez necesario para establecer el diagnóstico.

Por otro lado, este sistema no es demasiado sensible; solo se consiguen sensibilidades del 95% cuando los contajes de linfocitos $CD4^+$ son menores de $500/mm^3$. Pero la sensibilidad baja mucho en pacientes con mayores cuentas de células T $CD4^+$.

La depleción de células $CD8^+$, que puede inhibir la replicación del virus *in vitro*, antes de cultivar las PBMC puede aumentar la probabilidad de obtener un cultivo positivo en pacientes con fuertes respuestas inmunitarias celulares específicas de HIV.

El valor del aislamiento de virus está principalmente en que permite la subsiguiente investigación de las características genotípicas y fenotípicas del virus tales como la resistencia a drogas.

8. 3. Ensayos para secuencias de nucleótidos de HIV

Una evidencia de la infección de HIV-1 también puede obtenerse mediante la demostración de DNA HIV-1 proviral en PBMC o RNA HIV-1 asociado al virión en el suero o sangre.

La mayoría de los ensayos para detectar DNA HIV-1 proviral están basados en PCR, para amplificar secuencias conservadas en los genes gag o pol. Se detectan así fragmentos del virus integrado en el genoma.

Los ensayos para la detección y cuantificación del RNA HIV-1 están basados en la amplificación del "target" (transcripción reversa del RNA HIV-1 a cDNA, seguido por la amplificación por PCR u otros medios) o por amplificación de señal (p. ej., decoración seriada del RNA diana con sondas de oligonucleótidos ramificados).

A pesar de la sensibilidad de las técnicas basadas en PCR, su empleo es sólo realizado por laboratorios especializados, debido a la posibilidad de aparición de resultados falso-positivos debidos a problemas de contaminaciones.

8. 4 Diagnóstico de HIV-1 en neonatos y niños

Los test serológicos no son aplicables en neonatos puesto que los anticuerpos IgG atraviesan la placenta. El bebé siempre va a tener anticuerpos IgG, pero eso no implica que el niño esté enfermo.

Todos los niños nacidos de madres infectadas con HIV-1 son inicialmente seropositivos para HIV-1, pero sólo del 15% al 25% de estos niños están infectados con HIV-1.

Los anticuerpos transmitidos de la madre (IgG) se mantienen en títulos altos durante 12-18 meses.

La persistencia de anticuerpos HIV-1 más allá de 18 meses es tomada como valor diagnóstico de la infección del niño. Sin embargo, es mucho tiempo para esperar a ver si decaen.

Por otro lado tampoco se puede dar un tratamiento generalizado a todos los niños, dados los efectos secundarios que tienen los tratamientos. Por tanto, es muy importante obtener el diagnóstico lo más temprano posible y de esta forma el paciente podrá beneficiarse de los tratamientos antiretrovirales y profilácticos.

Al contrario que con los anticuerpos IgG, los anticuerpos maternos IgM e IgA no son capaces de atravesar la placenta, y , por tanto, la presencia de anticuerpos IgM o IgA específicos de HIV-1 en un niño indicarían que éste está infectado. Desgraciadamente, la detección de estos anticuerpos presenta problemas de sensibilidad y especificidad y actualmente no existen tests disponibles.

Los métodos directos para detectar HIV-1 tales como el ensayo de antígeno p24 en suero, el cultivo del virus, o el ensayo de PCR del DNA HIV-1 son más sensibles y específicos que los ensayos de anticuerpos en el diagnóstico de la infección HIV-1 en neonatos. Con estos métodos el diagnóstico del niño puede realizarse en el primer mes de vida, lo que facilitará las decisiones terapéuticas apropiadas.

9. Tratamiento

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad suelen ser ocasionadas por ataques de patógenos oportunistas que se aprovechan de la destrucción progresiva del sistema inmune por el HIV. El tratamiento dependerá por tanto de cuáles sean esas infecciones oportunistas. Es respecto al tratamiento sobre la acción del propio HIV lo que se tratará en este apartado.

Con el tratamiento antirretroviral se busca prevenir, retrasar e incluso eliminar la destrucción inmunológica en el paciente, impidiendo la replicación del virus en las células.

Pero cualquier fármaco puede provocar resistencia en sus dianas, y los antirretrovirales no son una excepción.

9.1 Factores que condicionan la aparición de mutantes

9.1.1 La frecuencia de mutación viral

En el HIV esta frecuencia es elevada, de $3 \cdot 10^{-5}$ nucleótidos por ciclo de replicación, lo que dado el tamaño del genoma del virus (10kb) supone que de cada diez virus generados, tres serán mutantes.

Además, los mecanismos de recombinación pueden aumentar la diversidad. Si hay una co-infección de dos virus con diferencias en el genoma, la retrotranscriptasa puede cambiar de molde (saltar del genoma de uno al del otro); **(Figura 20)**, dando un virus recombinante. Algunos de estos genomas recombinantes se han estabilizado en la población humana y se clasifican como formas recombinantes circulantes (CRFs, "*circulating recombinant forms*"). Por otro lado, dentro de un hospedador, la recombinación puede ser una fuerza importante para la diseminación de resistencia a drogas.

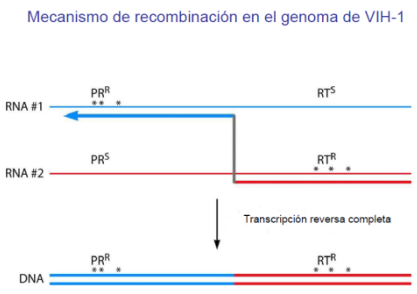


Figura 20.
Mecanismo de salto de la retrotranscriptasa, causa de variabilidad génica en coinfección con virus VIH de genoma diferente.

El hecho de que los genomas del virus se encapsiden por parejas (causando la proximidad espacial entre ambos) además de que para la síntesis del DNA viral se deben producir dos cambios de molde, facilita este salto entre cadenas. La generación de un DNA retroviral no es tan sencillo como la copia del RNA sentido en un DNA antisentido, seguido de la síntesis de la cadena complementaria.

En resumen, la recombinación se puede dar al saltar la retrotranscriptasa entre genomas del virus permitiendo la aparición rápida de resistentes a más de un fármaco al combinarse los genomas de resistentes a medicamentos diferentes, que serían difíciles de obtener simplemente por acumulación de mutaciones. Por ejemplo, un gRNA parental que contiene un alelo PR (proteasa) con mutaciones que le confiere resistencia a inhibidores de proteasas, recombina con un segundo genoma que expresa una RT con resistencia a zidovudine (AZT).

La frecuencia de recombinación es alta, hay unos 2-3 procesos de recombinación por ciclo de replicación, y se detecta si hay co-infección de dos viriones genéticamente diferentes, pero no cuando una célula es coinfectada con dos virus genéticamente iguales. Para que se genere un virión con 2 gRNAs diferentes se debe cumplir (i) el establecimiento de 2 provirus genéticamente diferentes en una misma célula; (ii) la asociación de dos diferentes gRNAs en una misma cápsida. Hay mecanismos para prevenir esto, pues los propios virus codifican proteínas como Nef, que al disminuir CD4 y los correceptores dificultan que otra partícula viral interaccione con esa célula. Esto explica el hecho de que en la mayoría de las

infecciones retrovirales se observa un efecto de protección de una célula infectada de la subsiguiente reinfección por un virus similar.

9.1.2 La velocidad de replicación del virus

Este factor tiene grandes consecuencias sobre la probabilidad de aparición de mutantes resistentes. Muchas infecciones víricas se caracterizan por niveles altos de replicación de virus. Esto es especialmente cierto en las infecciones crónicas con HIV, HBV y HCV. La probabilidad de aparición de resistencia a AZT aumenta en pacientes infectados con HIV de acuerdo a como disminuye los contajes de células T $CD4^+$, que se asocian con niveles aumentados de replicación de HIV. Con unos 10^8 a 10^{10} nuevos viriones generados diariamente durante la infección HIV, una tasa de mutación de aproximadamente $3 \cdot 10^{-5}$ por nucleótido garantiza la pre-existencia de casi cualquier mutación en cualquier punto. De hecho, los mutantes resistentes a drogas han sido identificados en aislados obtenidos de pacientes no expuestos previamente a drogas. La presión selectiva del tratamiento de drogas permite el sobrecrecimiento de estos mutantes pre-existentes

9.1.3 La mutabilidad intrínseca del sitio diana de la droga antiviral

La importancia de este factor depende del sitio en sí y de la importancia de ese sitio para la función de la proteína a la que se une. De esto dependerá la aparición más o menos rápida de variantes víricas resistentes a la droga.

9.1.4 La presión selectiva de la droga antiviral

Respecto a este factor, una droga es un compuesto que confiere presión selectiva suficiente sobre la replicación del virus para seleccionar los mutantes resistentes a la droga, pues los no mutantes (o mutantes no resistentes) serán afectados por el fármaco y morirán. Altas dosis del medicamento (por ejemplo AZT) tienden a seleccionar virus resistentes a la droga más eficientemente que bajas dosis. Aumentando la presión selectiva para los mutantes resistentes aumenta la probabilidad de que tales mutantes alcancen niveles significativos de persistencia de replicación viral. Cuando la actividad de una droga antiviral aumenta, la cantidad de replicación del virus disminuye hasta el punto donde la probabilidad de emergencia de resistencia comienza a disminuir. Esta probabilidad se hace nula cuando la replicación del virus es inhibida completamente. Así, la meta última de la quimioterapia es la infección viral es la identificación de regímenes de drogas que inhiban completamente la replicación del virus

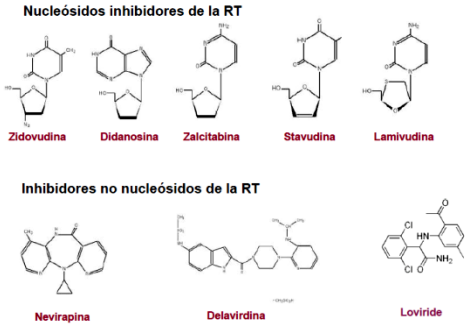
9.2 Fármacos antirretrovirales

La mayoría de las drogas antirretrovirales, al menos en un principio, tenían como diana la retrotranscriptasa del virus. Otros medicamentos posteriores buscan afectar a otras fases del ciclo vital del HIV. Los tratamientos pueden clasificarse en**:**

9.2.1 Inhibidores nucleosídicos de la RT

El zidovudine (ZDV, AZT o retrovir) fue la primera droga que mostró un efecto beneficioso para el tratamiento de la infección de HIV. El zidovudine es análogo de pirimidina con un grupo azido substituyendo el grupo 3'-hidroxilo sobre el anillo de ribosa. Este compuesto fue inicialmente desarrollado como un agente quimioterapéutico con potencialidad antitumoral, su actividad anti-retroviral fue primero demostrada frente al **virus de la leucemia de Friend** en los años 70 y en 1985 mostró una prometedora actividad *in vitro* frente a HIV-1. Dada su estructura, su mecanismo de acción se basa en la incorporación por parte de la RT a la cadena en elongación con la consiguiente terminación prematura debido a la imposibilidad del análogo de formar el enlace fosfodiéster. Compuestos similares son la didanosina o la estavudina **(Figura 21).**

Virus de la leucemia de Friend. Cepa de retrovirus murina causante de leucemia. Fue descubierta por Charlotte Friend en 1958, y es especialmente utilizada como modelo para analizar la resistencia a retrovirus en ratones.



9.2.2 Inhibidores no nucleosídicos de la RT

Este grupo de inhibidores es una clase químicamente diversa de compuestos que se unen a un bolsillo estructural de la RT de HIV-1 cerca del sitio catalítico de la polimerasa. Estos compuestos son eficaces, pero rápidamente producen una selección para la aparición de variantes resistentes a la droga. Entre estos compuestos están el nevirapina, el delavirdina y el loviride. **(Figura 21).**

Figura 21.
Ejemplos estructurales de inhibidores tanto nucleosídicos como no nucleosídicos de la retrotranscriptasa.

9.2.3 Inhibidores de proteasas

Estos compuestos son una clase variada de compuestos que comparten la característica de mimetizar el substrato peptídico de la enzima viral.

La replicación del retrovirus requiere la rotura proteolítica mediada por el virus de polipéptidos precursores gag y gag-pol. La enzima viral responsable de esta función esencial de HIV-1 es una aspartil-proteasa. Las proteasas virales tienen actividades altamente específicas, y, aunque tienen características relacionadas con las enzimas del hospedador como la renina, la colagenasa y la elastasa, su función no puede ser rescatada por

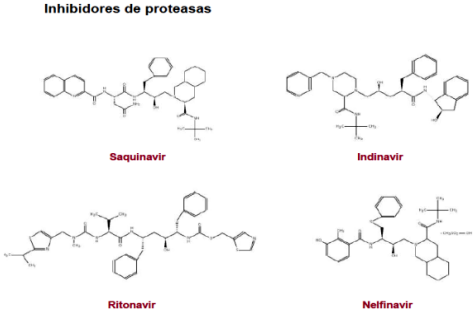


Figura 22. Estructura de distintos inhibidores de proteasas.

las enzimas celulares. Por estas razones, la proteasa HIV es una diana antiviral atractiva. Algunos ejemplos son el saquinavir, el indinavir, el ritonavir, el VX-478 y el nelfinavir. **(Figura 22)**

Una diana actualmente en exploración podría ser impedir la entrada del virus en la célula. Existen ligandos naturales para el receptor CCR5 que bloquean la infección por HIV, tales como MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4) y RANTES (CCL5). En un principio se planteó en la utilización directa de estas quimioquinas, pero pronto se vio que producen efectos secundarios no deseados.

Otra estrategia seguida ha sido la de inhibir las interacciones gp120-correceptor mediante el empleo de un grupo de compuestos que se unen a un bolsillo hidrofóbico de las hélices transmembrana de CCR5 **(Figura 23).** Esta interacción conduce a un cambio estructural en los lazos extracelulares implicados en la interacción con HIV. Dentro de esta categoría está el Maraviroc, que fue aprobado en 2007 para el tratamiento de pacientes infectados con cepas de HIV resistentes a múltiples agentes antirretrovirales. Este compuesto, es efectivo sólo frente a cepas HIV R5-trópicas (es decir, aquellas que emplean CCR5 como correceptor).

Figura 23. Inhibidores que afectan a la unión al correceptor y fusión de membranas del virus y la célula

Fármacos que tienen como blanco la interacción entre gp120 y el otro correceptor de HIV, CXCR4, se han desarrollado e investigado. Sin embargo, CXCR4, contrario a CCR5, es esencial para múltiples procesos fisiológicos, causando letalidad embrionaria su deleción en ratones. En humanos, ciertas mutaciones en heterocigosis de este receptor están asociadas a algunos síndromes de inmunodeficiencia, por lo que no parece probable que este camino dé los frutos deseados.

También se viene investigando en la búsqueda de agentes farmacológicos capaces de bloquear la fusión de membranas mediada por gp41. Así, se encontró que péptidos sintéticos correspondientes a los dominios HR1 y HR2 de gp41 ejercían potentes efectos antivirales. El mecanismo de acción parece ejercerse a nivel de bloquear la reorganización de la gp41, proceso necesario para desencadenar la fusión; la unión competitiva de los péptidos a los dominios HR1 y HR2 sería responsable de dicho bloqueo

El inhibidor de la fusión enfuvirtide fue aprobado por la FDA de Estados Unidos para el tratamiento de pacientes en 2003. Enfuvirtide es un péptido sintético lineal de 36 aminoácidos con una secuencia idéntica a la región HR2 de gp41. Sin embargo, dado que las sustancias peptídicas no pueden ser administradas por vía oral (dada su labilidad) y deben ser inyectadas, existe una gran actividad de búsqueda de otro tipo de moléculas que tengan la capacidad de bloquear la fusión.

9.3 Terapia HAART

La introducción en 1997 de un tratamiento consistente en la co-administración de tres drogas diferentes (terapia combinada triple), dos inhibidores de la RT (uno nucleosídico y otro no nucleosídico) y un inhibidor de proteasas, supuso un avance definitivo en la lucha contra la infección del HIV que pasó de ser una infección de mal pronóstico a una infección crónica controlable. Una de las razones del éxito de esta estrategia de tratamiento se encuentra en el hecho de que es muy poco probable la existencia de mutantes resistentes simultáneamente a las tres drogas al principio del tratamiento. Estas poderosas combinaciones anti-HIV son conocidas como el tratamiento anti-retroviral sumamente activo (TARSA o HAART, "*Highly Active Antiretroviral Therapy*"). La combinación de medicamentos puede modificarse en función de la aparición de efectos secundarios o resistencias.

La administración de esta terapia disminuye los niveles de HIV-1 por debajo del límite de detección de los métodos clínicos de diagnóstico (50 copias de RNA de HIV-1 RNA por mililitro de plasma). Este tratamiento lleva a un incremento de linfocitos T $CD4^+$, el restablecimiento parcial de la función inmunitaria y una disminución en las infecciones oportunistas y las muertes por SIDA. Esto ha provocado que la infección por HIV-1 haya pasado de ser una enfermedad de consecuencias mortales a una enfermedad crónica. Sin embargo, se ha comprobado que esta terapia no implica una cura, pues se ha demostrado que aun a bajos niveles se detectan células infectadas en pacientes tras años de tratamiento, debido a la persistencia del virus de forma no muy bien caracterizada. Además, si se detiene el tratamiento, en poco tiempo (3-4 semanas) se observa un claro aumento en la carga viral de las personas infectadas **(Figura 25)**.

Sin embargo, la gran mayoría (>95%) de las personas infectadas con HIV no tienen actualmente acceso a las drogas antirretrovirales.

10. Latencia

Aunque el virus HIV-1 se está multiplicando de forma continua durante la infección, puede establecer un estado de latencia a nivel celular. De hecho, se han detectado *in vivo* HIV-1 latentes en células T $CD4^+$ no activadas. Estas infecciones latentes en células T $CD4^+$ de memoria son debidas al tropismo que tiene el virus HIV-1 por células T $CD4^+$ activadas, que cuando vuelven al estado de reposo, se convierten en células T de memoria. El HIV-1 se encuentra en forma de provirus cuando establece latencia, integrado en el genoma aunque transcripcionalmente silencioso. De esta manera, ni la respuesta inmunitaria ni los fármacos antirretrovirales pueden afectar al virus.

Las células T $CD4^+$ que contienen el virus latente son un reservorio de virus y constituyen un impedimento para el tratamiento de la infección. Se estima que en un individuo infectado, después de haber pasado por un tratamiento eficaz (donde los niveles de viremia son indetectables), aún puede tener hasta 10^7 células infectadas de forma latente (principalmente linfocitos T $CD4^+$ de memoria).

Cuando una célula T $CD4^+$ interacciona con su antígeno, experimenta una transformación y entra en ciclo celular para empezar a dividirse rápidamente, dando lugar a células efectoras activadas. Algunas de estas células revierten al estado G0 quiescente (células de memoria), preparadas para responder al antígeno rápidamente en un futuro **(Figura 24)**.

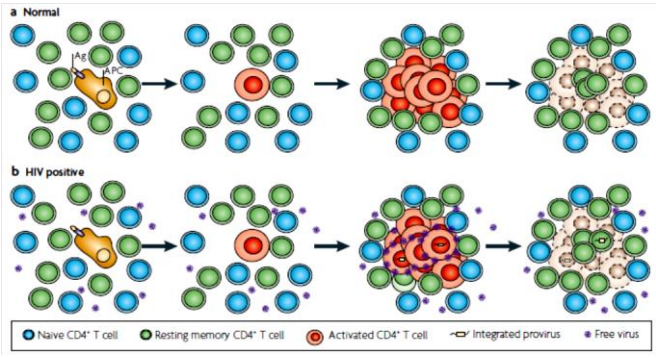


Figura 24. a| Curso normal de una respuesta de células T $CD4^+$. Cuando una célula T (azul) se encuentra con un antígeno presentado por una célula APC, sufre una transformación y prolifera, generando un clon de células efectoras activadas (rojo). Cuando el antígeno se elimina, muchas de esas células efectoras mueren. Sin embargo, algunas sobreviven y vuelven al estado de reposo, generando células T de memoria de larga duración.
b| Respuesta de células T $CD4^+$ en un paciente con una infección por HIV-1 no tratada. El virus se replica preferentemente en células T $CD4^+$ activadas. Los linfoblastos activados mueren rápidamente, pero en algunas ocasiones puede sobrevivir suficiente tiempo como para revertir al estado de reposo (o de memoria), que no permite la replicación viral. El resultado es un provirus integrado de manera estable pero transcripcionalmente silenciado en una célula con una vida media larga.

El virus HIV-1 se replica preferentemente en células T $CD4^+$ activadas, que solo sobreviven unos pocos días tras la infección. Sin embargo, algunas de estas células pueden volver al estado G0 quiescente. Como consecuencia de este cambio, la expresión génica del virus queda bloqueada. Una de las causas es que la transcripción a partir de las LTR del virus es inducida por factores transcripcionales de la célula (como NF-κB o NFAT), que son excluidos del núcleo en las células quiescentes. El resultado es un provirus integrado de forma estable pero transcripcionalmente silencioso en una célula T de memoria (que va a sobrevivir largos períodos de tiempo en el organismo). Si la célula se activa de nuevo (por interacción con su antígeno o por citoquinas), comenzará a producir virus. Por tanto, la latencia del HIV-1 se basa en una característica del sistema inmune: la memoria inmunológica, que reside en los linfocitos de memoria (células quiescentes).

Otros tipos celulares donde el virus podría establecer latencia serían los macrófagos (en forma de DNA no integrado) o en las células dendríticas foliculares, presentes en los tejidos linfoides y especializadas en atrapar y retener antígenos sobre su superficie (en forma de inmunocomplejos). Estudios recientes han puesto de manifiesto que el HIV-1 también podría establecer latencia en células progenitoras hematopoyéticas.

10.1. Implicaciones de la latencia viral en el tratamiento antirretroviral

Los tratamientos actuales son efectivos, pero deben mantenerse de por vida. Si se cesa el tratamiento, se observa una expansión o rebrote del virus. A pesar del tratamiento prolongado, los pacientes mantienen viremias entre 1 a 50 copias por mililitro de sangre **(Figura 25)**.

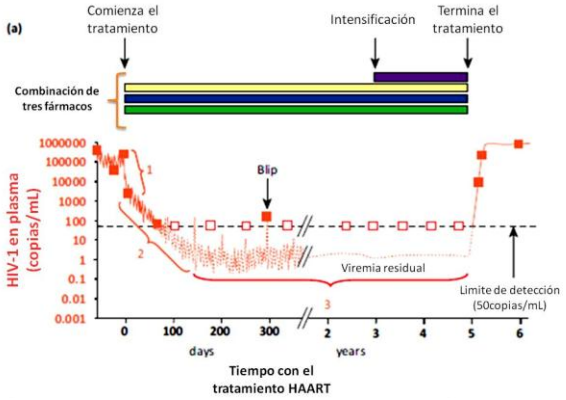


Figura 25.
En este gráfico podemos observar la evolución del número de copias del material genético de VIH a lo largo de un tratamiento TARSA, manteniéndose bajo mientras dura el tratamiento pero disparándose en cuanto este se abandona.

A parte de ser tratamientos caros, también existen efectos secundarios debido a su uso prolongado. Algunos pacientes llevan ya 20 años con el tratamiento y se estima que hay 3 millones de personas en tratamiento en el mundo occidental. Aunque la toxicidad del tratamiento HAART es baja, sí que hay una mayor incidencia de enfermedades cardíacas, diabetes, enfermedades hepáticas o cáncer. Por estas razones, actualmente existe una intensa investigación en la búsqueda de mecanismos de activación de los virus latentes para llevar a cabo una curación total de las personas infectadas.

En 2009 apareció el caso de un posible paciente curado de HIV-1. Este paciente fue tratado de una leucemia mediante destrucción de su tejido mieloide y la reconstitución con células madre hematopoyéticas procedentes de un donante homocigoto para la mutación CCR5Δ32 (y por tanto resistente al HIV-1). Al paciente, conocido como el "paciente de Berlín", se le dejó de administrar el tratamiento TARSA el día anterior de someterse al trasplante (en 2007) y no ha mostrado signos desde entonces de replicación viral. Pero una terapia tan drástica como ésta no se contempla como una estrategia de tratamiento habitual contra la infección, y se están buscando otras vías para desarrollar una cura total.

Una estrategia que se está ensayando actualmente es la utilización de nucleasas específicas de sitio para producir células resistentes a la infección por HIV-1. Las proteínas ZFNs son proteínas obtenidas por ingeniería molecular y contienen dos dominios: un dominio de dedo de zinc (que reconoce específicamente una secuencia) y un dominio endonucleasa. Cuando la proteína se une al sitio de reconocimiento en el DNA, la endonucleasa produce una rotura en las dos cadenas que será reparada por mecanismos celulares de reparación (mecanismo de unión de extremos no homólogos). Se han diseñado ZFNs específicas para impedir la expresión de CCR5 y CXCR4, lo cual se consigue mediante el uso de vectores adenovirales o retrovirales, que introducen las ZFNs en las células. La alteración del gen CCR5 en células T $CD4^+$ en células hematopoyéticas conduce a menores cargas virales en ratones 'humanizados'.

Con esta estrategia, se está llevando a cabo un ensayo clínico en personas infectadas. Las células T $CD4^+$ de los pacientes se recogen mediante **aféresis** y se introduce en ellas una ZFN específica de CCR5 mediante adenovirus. Las células modificadas

Aféresis. Método de recolección y separación de los componentes de la sangre. El paciente o donante es conectado a la máquina de aféresis y la sangre es separada por centrifugación en sus distintos componentes según su densidad. El componente elegido por el médico es recogido progresivamente por el computador del separador en una bolsa especial y las células restantes se devuelven al donante o paciente sin daño alguno.

genéticamente son introducidas de nuevo en los pacientes. Sin embargo, la limitación de esta estrategia es que la ZFN no puede eliminar directamente a las células infectadas de forma latente (que ya tienen el virus integrado).

Actualmente se tiene un gran conocimiento sobre los factores implicados en el silenciamiento y la activación de la expresión génica del provirus HIV-1 **(Figura 26)**. En los linfocitos T CD4$^+$ en reposo, los nucleosomas adyacentes al promotor del HIV llevan marcadores de heterocromatina silenciosa: trimetilación de la lisina 9 de la histona H3 (H3K9me3), la proteína HP1 y bajos niveles de acetilación de histonas. Cuando se produce la activación de los linfocitos T, hay una serie de eventos para revertir el proceso de silenciamiento: degradación de IκB y activación de NFAT.

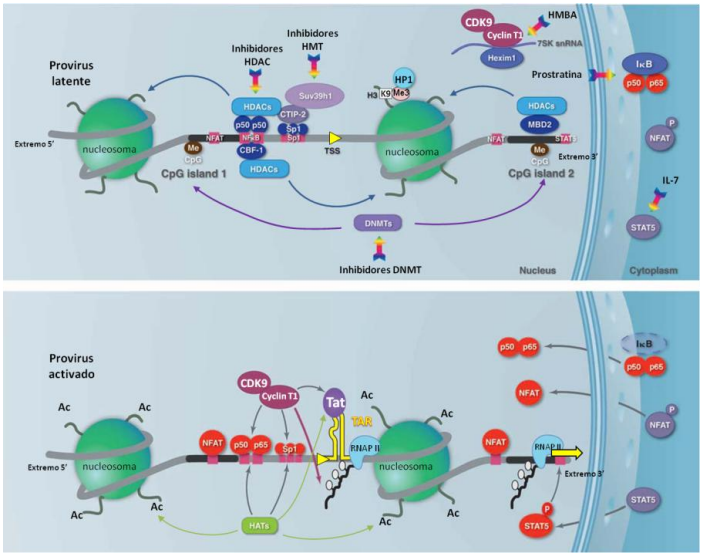


Figura 26.
El DNA viral se encuentra ensamblado en nucleosomas. Las flechas grises representan movimientos de proteínas y las flechas de colores unen enzimas con sus dianas. Las flechas, más grandes y de todos los colores, representan posibles intervenciones farmacológicas que conllevan la activación transcripcional del HIV.
(A) En células en reposo, proteínas HDACs y HMTs son reclutadas al promotor del HIV. Desacetilación y metilación de histonas en los nucleosomas inducen un estado de heterocromatina. La metilación de dos islas CpG por DNA metiltransferasas (DNMTs) también puede reprimir la transcripción. Los factores de transcripción inactivos se encuentran retenidos en el citoplasma.
(B) En células T activadas, los factores de transcripción y las proteínas HATs se reclutan para unirse al promotor viral. La acetilación de histonas y la fosforilación de RNA pol II ayudan a la remodelación de la cromatina hacia una conformación más accesible que aumenta la transcripción. La expresión de HIV se ve estimulada por la unión de NFAT y otros factores de transcripción.

HAT: Histone acetyltranferase. Enzima clave en la regulación de la expresión génica. Su función es la transferencia de un grupo acetilo a residuos conservados de lisina en las histonas (u otras proteínas, como factores de transcripción). La acetilación de histonas está relacionada con activación transcripcional y eucromatina. Es decir, que aumenta la expresión de ciertos genes.

HDAC: Histone deacetyltranferase. Realiza la función contraria, eliminando grupos acetilo de histonas o factores de transcripción. La deacetilación de histonas conlleva a un estado más compacto de la cromatina, lo que implica silenciamiento transcripcional.

El factor IκB es el inhibidor de NFκB y su degradación permite la migración de NFκB (la forma activa es el heterodímero p50-p65) al núcleo donde se une al promotor del HIV y estimula su expresión a través del reclutamiento de **HATs** y de la maquinaria de remodelación de la cromatina. NFAT es un regulador positivo de la transcripción de HIV y su activación depende de la activación celular.

También se ha visto que algunos activadores transcripcionales se regulan por acetilaciones en residuos de lisina. Por ejemplo, la proteína CBP (lisina acetiltransferasa p300/CBP) acetila la subunidad RelA del factor NFκB y aumenta su actividad transcripcional. En cambio, HDAC3C (histona deacetilasa) deacetila RelA y regula negativamente su actividad. Por tanto, la inhibición de **HDACs** conduce a una hiperacetilación de NFκB que puede explicar la reactivación del HIV que se observa en presencia de estos inhibidores.

Teniendo en cuenta los mecanismos responsables del establecimiento y mantenimiento de la latencia, existen tres categorías de agentes que se están ensayando como terapia: activadores de linfocitos T, inhibidores de las enzimas que modifican las histonas e inhibidores de la metilación del DNA.

Lo primero que se probó fueron los activadores de linfocitos, como IL-2 o anticuerpos específicos de la subunidad CD3 del receptor de linfocitos T. Se observó una disminución de células con el virus, pero cuando se dejó de administrar la terapia HAART, la carga viral se incrementaba.

En estudios *in vitro* y *ex vivo*, se ha visto que es posible aumentar la actividad transcripcional del provirus latente por la combinación de una serie de sustancias como el **prostratin** (compuesto aislado de la corteza del árbol mamala y que es un inductor del NFκB), el ácido valproico (inhibidor de **HDACs**) o inhibidores de la metilación del DNA como el 5-aza-2'-deoxicitidina **(Figura 27)**.

Prostatin: Se trata del principio activo del té del árbol de mamala, una planta medicinal empleasa en medicina tradicional. Lleva siendo investigado desde hace 25 años por sus posibles aplicaciones terapéuticas contra enfermedades como el Alzheimer, el SIDA o la hepatitis.

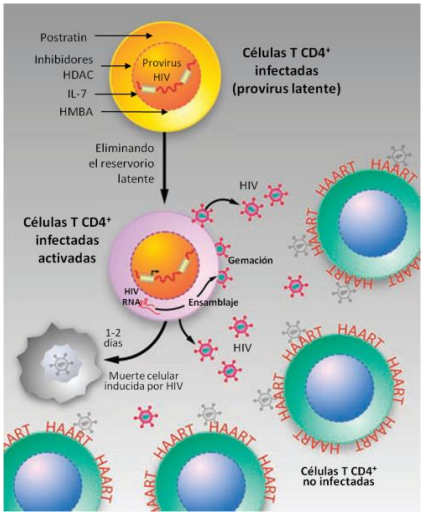


Figura 27.
Eliminando la infección latente.
Si estas aproximaciones dirigidas, individuales o en conjunto, son exitosas para activar el provirus HIV latente presente en las células T CD4$^+$ diferenciadas, la duración de estas células debería ser más corta. Estos agentes (que inducen la transcripción del virus) se deben usar en combinación con el tratamiento TARSA (= HAART) para prevenir la expansión del HIV a células T CD4$^+$ no infectadas.

11. Vacunas

Con la identificación del virus HIV como causa del SIDA, se pensó que pronto se tendría la vacuna, cuya búsqueda se inició hace unos 30 años. A este optimismo contribuyó el hecho de que se había desarrollado con éxito una vacuna frente al virus de la hepatitis B basada en la producción en levaduras de una proteína de la cubierta del virus. Actualmente existen unas 20 vacunas que se están ensayando en distintas fases.

Las dificultades que se han ido encontrado para desarrollar la vacuna han sido la identificación de inmunógenos capaces de inducir una inmunidad amplia y verdadera y la variabilidad genética del virus (lo cual ha complicado el tener una vacuna efectiva frente a todos los tipos y cepas de virus). Además la investigación no cuenta con modelos animales, lo cual es una limitación añadida.

En pacientes resistentes de larga duración, las respuestas proliferativas de células CD4 frente a antígeno HIV, las respuestas de células T CD8 citotóxicas y los niveles de anticuerpos neutralizantes son mayores que en pacientes con enfermedad progresiva. Estas son las características inmunológicas buscadas por las distintas estrategias vacunales ensayada.

En la **tabla 2** se muestran todas las estrategias vacunales probadas frente al HIV, que se dividen en dos grandes grupos: producción de una fuerte respuesta humoral o aquellas que producen una fuerte respuesta celular.

Las moléculas candidatas que más se están probando para ser vacuna frente al HIV son aquellas que contienen alguna parte de la proteína de la cubierta (Env), principalmente la proteína gp120. El virus emplea esta proteína para entrar en las células y la generación de anticuerpos contra esta proteína impediría que el HIV infectase las células.

La gp120 ha sido administrada a voluntarios humanos y es capaz de promover la producción de anticuerpos, que son capaces de neutralizar al HIV *in vitro* y bloquear su habilidad para infectar linfocitos humanos cultivados. Sin embargo, los anticuerpos solo reconocen cepas de HIV que son muy similares a las empleadas para generar las vacunas en el laboratorio. Por otra parte, los anticuerpos inducidos son ineficaces en la neutralización de las cepas HIV aisladas de pacientes.

Para mejorar la eficacia de la neutralización se han ensayado partículas víricas completas muertas para presentar al sistema inmune formas más naturales de la proteína Env. Sin embargo el proceso de inactivación tiene que ser muy riguroso porque cualquier material genético viral residual podría ser potencialmente peligroso.

Como estrategia alternativa, las proteínas Env se podrían presentar al sistema inmunitario formado parte de "pseudoviriones", estructuras artificiales parecidas a partículas víricas. Estas partículas son seguras, pero son difíciles de producir en una forma estable.

El otro grupo de vacunas son las que están dirigidas a generar una activación específica de linfocitos T citotóxicos (CTL). Estas células reconocen pequeños péptidos extraños presentados en la superficie de una célula infectada en contexto de MHC-I. La vacuna debería inducir a que determinadas células sinteticen y muestren péptidos de proteínas víricas. De esta manera se montaría una respuesta inmunitaria frente a todas las células que muestren péptidos virales (incluyendo las invadidas por HIV). Al matar las células infectadas, se reduciría la producción de nuevos viriones. Además los linfocitos T $CD8^+$ activados producen quimioquinas como RANTES, MIP-1α y MIP-1β, que compiten por la unión al receptor CCR5.

Se han desarrollado diversos métodos para conseguir que las células produzcan y muestren fragmentos de proteínas de HIV. Uno de ellos está basado en la utilización de vectores vivos. Se insertan los genes HIV seleccionados en un virus que no es dañino, pero que conducirá el DNA con los genes HIV al interior de las células. El vector que más se usa es un derivado del virus "canarypox" (relacionado con el virus de la viruela). Este virus no es patogénico, penetra en las células pero no ensambla nuevas partículas virales. Hasta la fecha, estas vacunas son seguras, pero solo inducen una respuesta CTL moderada.

Otro método sería la administración de péptidos antigénicos derivados de las proteínas virales. Sin embargo estos péptidos tampoco inducen fuertes respuestas inmunitarias en humanos.

Por último, existe una nueva aproximación que consiste en la inyección de DNA desnudo de genes de HIV. Este DNA desnudo podría degradarse rápidamente, pero se ha comprobado que es capaz de entrar dentro de las células y dirigir la producción de proteínas virales. Se han hecho estudios en ratones y en primates con estas vacunas y se ha visto que generan respuestas CTL que reconocen las proteínas del HIV. De hecho, la primera vacuna de DNA desnudo que se ha ensayado en humanos ha sido la vacuna frente a HIV-1. Estos estudios (que implican centenares de personas) han puesto de manifiesto que este tipo de vacunas están bien toleradas en humanos y que no tienen ningún efecto secundario. Los resultados muestran respuestas de anticuerpos bajas o inexistentes, las respuestas de células T $CD4^+$ son razonables, pero las respuestas de células T $CD8^+$ no son lo suficientemente altas como para asegurar un control efectivo de la infección.

A finales del 2009, se dieron a conocer los resultados del ensayo RV144, realizado en Tailandia con 16.000 personas heterosexuales. Este ensayo consistía en la inoculación de un "*canarypox*" que contenía los genes de las proteínas Gap y Pol del HIV subtipoB y la proteína gp120 del subtipo E. En una segunda inoculación, se administraba una mezcla de proteínas gp120 de los subtipos B y E en hidróxido de aluminio. Los resultados indicaron que la vacuna había inducido una protección frente a la infección del 31%.

La conclusión es que quizás la mejor estrategia para obtener una vacuna eficaz es la de combinar formulaciones que induzcan tanto respuestas celulares como humorales. Además, ahora que la patogénesis de la infección se conoce mejor, los investigadores se han dado cuenta de que si el virus se mantiene a concentraciones bajas en sangre, una persona infectada podría no progresar nunca a la fase SIDA. Por tanto, incluso una vacuna parcialmente efectiva podría ser valiosa al limitar la cantidad de virus en los pacientes.

Tabla 2.

Constituyentes	Estado	Ventajas	Desventajas
Vacunas que producen anticuerpos anti-HIV			
Proteínas virales de superficie (ej: gp120).	Fase I y Fase II (evaluando la seguridad).	Seguro y simple de preparar.	Los anticuerpos inducidos no reconocen HIV de pacientes.
HIV completos inactivados.	Sin estudiar en humanos.	Deberían presentar proteínas de la superficie del HIV en una conformación relativamente natural. Simple de preparar.	Riesgo de que algunas preparaciones contengan algunos virus activos. Los virus inactivos pueden perder proteínas y ser inefectivos.
Pseudoviriones (virus artificiales).	Cerca de Fase I.	Presentan proteínas de la superficie del HIV en una conformación relativamente natural.	Difiícies de producir y asegurar una estabilidad a largo plazo.
Vacunas que producen una respuesta celular			
Vectores virales vivos.	Fase II.	Se puede controlar la cantidad y el tipo de proteínas virales producidas	Complicado de preparar. Se induce una respuesta moderada.
DNA desnudo.	Fase I.	Simple de preparar. No es caro.	Preocupaciones en cuanto a la integración de los genes en las células humanas (puede dañar a los pacientes).
Péptidos HIV.	Fase I.	Simple de preparar.	No muestran una fuerte respuesta inmunitaria.
Vacunas que producen una respuesta celular y humoral			
Combinaciones.	Fase II.	Debería estimular ambas partes de la respuesta inmune a la vez.	Complicado de preparar.
HIV vivo atenuado.	Sin estudiar en humanos, solo se ha probado en primates.	Vacuna que mejor imita al HIV, puede interferir con la capacidad de replicarse	Los virus podrían causar enfermedad.

Bibliografía.

Referencias.

- **Bailey, J., Blankson, J.N., Wind-Rotolo, M., and Siliciano, R.F.** (2004). Mechanisms of HIV-1 escape from immune responses and antiretroviral drugs. Curr. Opin. Immunol. 16: 470-476.
- **Baltimore, D. and Heilman, C.** (1998) HIV vaccines: Prospects and challenges. Scientific American. July: 78-83.
- **Belyakov, I.M., and Berzofsky, J.A**. (2004). Immunobiology of mucosal HIV infection and the basis for development of a new generation of mucosal AIDS vaccines. Immunity 20: 247-253.
- **Berger, E.A., Murphy, P.M. and Farber, J.A.** (1999) Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. Annu. Rev. Immunol. 17:657-700.
- **Buchanan, A.M. and Cunningham, C.K.** (2009). Advances and failures in preventing perinatal human immunodeficiency virus infection. Clin. Microbiol. Rev. 22: 493-507.
- **Coiras, M., Lopez-Huertas, M.R., Perez-Olmeda, M. and Alcami, J.** (2009). Understanding HIV-1 latency provides clues for the eradication of long-term reservoirs. Nat. Rev. Microbiol. 7: 798-812.
- **Connor, R., Ho, D., Kuritzkes, D. and Richman, D.** (1997) Human immunodeficiency virus. In: Clinical virology (D.D. Richman, R.J. Whitley y F.G. Hayden, eds). Churchill Livingstone Inc., New York.
- **Derdeyn, C.A., and Silvestri, G.** (2005). Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. Curr. Opin. Immunol. 17: 366-373.
- **Durand, C.M., Blankson, J.N. and Siliciano, R.F.** (2012). Developing strategies for HIV-1 eradication. Trends Immunol. 33: 554-562.
- **Estcourt, M.J., McMichael, A.J., and Hanke, T.** (2004). DNA vaccines against human immunodeficiency virus type 1. Immunol. Rev. 199: 144-155.
- **Fauci, A.S.** (2003) HIV and AIDS: 20 years of science. Nat. Med. 9: 839-843.
- **Finzi, D. and Siliciano, R.F.** (1998) Viral Dynamics in HIV-1 infection. Cell 93: 665-671.
- **Forsman, A. and Weiss, R.A.** (2008) Why is HIV a pathogen? Trends Microbiol. 16:555-560.
- **Gayle, H.D. and Hill, G.L.** (2001) Global impact of human immunodeficiency virus and AIDS. Clin. Microbiol. Rev. 14: 327-335.
- **Giri, M., Ugen, K.E., and Weiner, D.B.** (2004). DNA vaccines against human immunodeficiency virus type 1 in the past decade. Clin. Microbiol. Rev. 17: 370-389.
- **González, M.E. y Alcami, J.** (2006) Retroviridae. En: Virus patógenos (Eds.: L. Carrasco y J.M. Almendral). Ed. Hélice, pp. 281-305.
- **Haase, A.T.** (1999) Population biology of HIV-1 infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. Annu. Rev. Immunol. 17: 625-656.
- **Han, Y., Wind-Rotolo, M., Yang, H.C., Siliciano, J.D., and Siliciano, R.F.** (2007). Experimental approaches to the study of HIV-1 latency. Nat. Rev. Microbiol. 5: 95-106.
- **Heeney, J.L., Dalgleish, A.G., and Weiss, R.A.** (2006). Origins of HIV and the evolution of resistance to AIDS. Science 313: 462-466.
- **Hel, Z., McGhee, J.R., and Mestecky, J.** (2006). HIV infection: first battle decides the war. Trends Immunol. 27: 274-281.
- **Ho, D. D. and Huang, Y.** (2002) The HIV-1 vaccine race. Cell 110: 135-138.
- **Horuk, R.** (1999) Chemokine receptors and HIV-1: the fusion of two major research fields. Immunol. Today 20: 89-94.
- **Izquierdo-Useros, N., Naranjo-Gomez, M., Erkizia, I., Puertas, M.C., Borras, F.E., Blanco, J., and Martinez-Picado, J.** (2010). HIV and mature dendritic cells: Trojan exosomes riding the Trojan horse? PLoS Pathog *6*, e1000740.
- **Lawn, S.D., Butera, S.T. and Folks, T.M.** (2001) Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency virus type 1 infection. Clin. Microbiol. Rev. 14: 753-777.
- **Letvin, N.L. and Walker, B.D.** (2003) Immunopathogenesis and immunotherapy in AIDS virus infections. Nat. Med. 9: 861-866.
- **Malim, M.H. and Emerman, M.** (2001) HIV-1 sequence variation: drift, shift, and attenuation. Cell 104: 469-472.
- **Mann, J.M. and Tarantola, D.J.M.** (1998) HIV 1998: The global picture. Scientific American. July: 62-63.
- **McCune, J.M.** (2001) The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. Nature 410: 974-979.
- **McMichael, A.J.** (2006). HIV vaccines. Annu. Rev. Immunol. 24: 227-255.
- **McMichael, A.J. and Hanke, T.** (2003) HIV vaccines 1983-2003. Nat. Med. 9: 874-880.
- **Nabel, G.J.** (2001) Challenges and opportunities for development of an AIDS vaccine. Nature 410: 1002-1007.
- **Onafuwa-Nuga, A. and Telesnitsky, A.** (2009). The remarkable frequency of human immunodeficiency virus type 1 genetic recombination. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 73: 451-480.
- **Permanyer, M., Ballana, E., and Este, J.A.** (2010). Endocytosis of HIV: anything goes. Trends Microbiol. 18: 543-551.
- **Piot, P.**, **Bartos, M., Ghys, P.D., Walker, N. and Schwartländer, B.** (2001) The global impact of HIV/AIDS. Nature 410: 968-973.
- **Piguet V, Steinman RM.** (2007) The interaction of HIV with dendritic cells: outcomes and pathways. Trends Immunol. 28: 503-510.
- **Poignard, P., Saphire, E.O., Parren, P.W.H.I. and Burton, D.R.** (2001) GP120: Biologic aspects of structural features. Annu. Rev. Immunol. 19: 253-274.
- **Pomerantz, R.J. and Horn, D.L.** (2003) Twenty years of therapy for HIV-1 infection. Nat. Med. 9: 867-873.
- **Pope, M. and Haase, A.T.** (2003) Transmission, acute HIV-1 infection and the quest for strategies to prevent infection. Nat. Med. 9: 847-852.
- **Ray, N., and Doms, R.W.** (2006). HIV-1 coreceptors and their inhibitors. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 303: 97-120.
- **Richman, D.D.** (2001) HIV chemotherapy. Nature 410: 995-1001.
- **Richman, D.D., Margolis, D.M., Delaney, M., Greene, W.C., Hazuda, D. and Pomerantz, R.J.** (2009). The challenge of finding a cure for HIV infection. Science 323: 1304-1307.
- **Rowland-Jones, S., Pinheiro, S. and Kaul, R.** (2001) New insights into host factors in HIV-1 pathogenesis. Cell 104: 473-476.
- **Shattock, R.J., and Moore, J.P**. (2003). Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. Nat. Rev. Microbiol. 1: 25-

34.
- **Shearer, G.M.** (1998) HIV-induced immunopathogenesis. Immunity 9: 587-593.
- **Stevenson, M.** (2003) HIV-1 pathogenesis. Nat. Med. 9: 853-860.
- **Tilton, J.C. and Doms, R.W.** (2010). Entry inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. Antiviral Res. 85: 91-100.
- **Trono, D., Van Lint, C., Rouzioux, C., Verdin, E., Barre-Sinoussi, F., Chun, T.W., and Chomont, N.** (2010). HIV persistence and the prospect of long-term drug-free remissions for HIV-infected individuals. Science 329: 174-180.
- **Willey, S. and Aasa-Chapman, M.M.I.** (2008). Humoral immunity to HIV-1: neutralisation and antibody effector functions. Trends Microbiol.16: 596-604.
- **Wu, Y. and Yoder, A.** (2009). Chemokine coreceptor signaling in HIV-1 infection and pathogenesis. PLoS Pathog 5: e1000520.

Direcciones web de interés.

- http://hivinsite.ucsf.edu
  Información en varios idiomas sobre diagnóstico, infecciones oportunistas, tratamiento y epidemiología del SIDA.
- http://www.avert.org
  Avert-AIDS Education and Research Trust. Datos históricos, epidemiológicos e imágenes de HIV y SIDA.
- http://www.unaids.org
  Programa de las Naciones Unidas para la lucha contra el SIDA.
- http://content.nejm.org/cgi/content/full/359/4/339/DC2?query=TOC
  Presentación interactiva de la estructura del HIV y su ciclo biológico.

Origen de las figuras.

- **Figura 2**. Adaptado de Buchanan and Cunningham (2009).
- **Figura 4.** Obtenido de http://commons.wikimedia.org/wiki/File:800px-HIV_Viron_es.png
- **Figura 6.** Obtenido de http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rev-mediated_HIV_mRNA_transport.png
- **Figura 7.** Adaptado de Tilton (2010).
- **Figura 8.** Adaptado de Erik de Clercq (2003).
- **Figura 9**. Adaptado de Alcamí y Coiras (2011).
- **Figura 11.** Adaptado de Horuk (1999).
- **Figura 12.** Adaptado de Berger *et al.*(1999)
- **Figura 13.** Adaptado de Tilton & Doms (2010).
- **Figura 14.** Adaptado de Berger (1999)
- **Figura 15.** Adaptado de Wu & Yoder (2009).
- **Figura 16.** Adaptado de Wu & Yoder (2009).
- **Figura 17.** Adaptado de Forsman y Weiss (2008).
- **Figura 18.** Adaptado de Hel *et al.* (2006)**.**
- **Figura 20.** Adaptado de Onafuwa-Nuga and Telesnitsky (2009).
- **Figura 23.** Adaptado de Tilton (2010).
- **Figura 24.** Adaptado de Han *et al.* (2007).
- **Figura 25.** Adaptado de Durand (2012).
- **Figura 26.** Adaptado de Trono (2010).
- **Figura 27.** Adaptado de Richman (2009)
- **Tabla 2.** Adaptado de Baltimore (1998)