

BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)

Dra. Cristina del Rosario Gutiérrez García

*Departamento Virología, Sección de Programas Especiales, Hepatitis Sida
Instituto Nacional de Higiene*

RESUMEN

Veinte años después de su descubrimiento, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se ha convertido en la pandemia más importante de las últimas décadas. El SIDA es causado por dos diferentes virus de inmunodeficiencia humanos, VIH-1 y VIH-2, pertenecientes a la familia Retroviridae. La partícula viral consiste de una envoltura de naturaleza lipoproteica, derivada de la membrana celular hospedera, que contiene las dos proteínas de envoltura viral, denominadas gp120 y gp 41. La envoltura rodea a la nucleocápside, estructura constituida por una cubierta intermedia o matriz y una cápside interna que está en estrecha interacción con el genoma viral representado por una molécula de ARN de doble cadena y polaridad positiva de longitud aproximada de 9.800 nucleótidos. Los genes del VIH se localizan en la región central del genoma integrado o provirus y codifica al menos nueve proteínas (estructurales, reguladoras y accesorias). El conocimiento del ciclo de vida del VIH provee las bases biológicas para el control de la epidemia. Una de las características principales del VIH es su rápida evolución, lo cual resulta en una diversidad genética considerable entre diferentes aislados del mundo entero. Existen 3 grupos principales, 9 subtipos y formas recombinantes descritas para el VIH-1. La variabilidad genética de este agente viral y en consecuencia, cualquier variación fenotípica influye sobre la patogénesis de la infección y el control de la enfermedad. Finalmente, se discuten las implicaciones de la diversidad genética observada en el VIH sobre el desarrollo de vacunas y terapias antiretrovirales eficaces contra este agente viral.

PALABRAS CLAVE: VIH, INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA, GENOMA, REPLICACIÓN, VARIABILIDAD.

SUMMARY

Twenty years after its recognition, the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) has become the most important pandemic in the last decades. AIDS is caused by two different human immunodeficiency viruses, HIV-1 and HIV-2, belonging to the Retroviridae family. The viral particle consists of lipoprotein envelope derived from host cell membranes which contains two viral envelope proteins, designated as gp120 and gp41. The envelope surrounds the nucleocapsid, a structure formed by an intermediate covering or matrix and an internal capsid that is tightly interacting with the viral genome represented by a positive-sense double stranded RNA molecule of approximately 9.800 nucleotides. The genes of HIV are located in the central region of the proviral DNA and encode at least nine proteins (structural, regulatory and accessory proteins). Understanding the HIV life cycle provides the biological basis for controlling the epidemic. One of the major characteristics of HIV is its rapid evolution, which has resulted in substantial genetic diversity amongst different isolates worldwide. There are 3 main groups, 9 subtypes and recombinant forms described to HIV-1. Genetic variability of this viral agent and any consequent phenotypic variation affect to pathogenesis of HIV infection and disease control. Finally, the implications of HIV genetic diversity on the development of efficient vaccines and antiretroviral therapies against this viral agent are discussed.

KEY WORDS: HIV, IMMUNODEFICIENCY ACQUIRED, GENOME, REPLICATION, VARIABILITY.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) constituye la primera pandemia de la segunda mitad del siglo XX¹. En 1981, se diagnosticaron los primeros casos de SIDA en jóvenes varones homosexuales. En 1983, Françoise Barré-Sinoussi y colaboradores del Instituto Pasteur de París y en 1984, un grupo encabezado por Robert C. Gallo, del Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos, lograron independientemente identificar el agente causal de la enfermedad, un retrovirus. Los investigadores franceses lo denominaron LAV (siglas en inglés, virus asociado a la linfadenopatía) y el grupo norteamericano lo denominó HTLV-III (por virus linfotrópico T humano tipo III), relacionado con dos retrovirus linfotrópicos T humanos HTLV-I y HTLV-II, desencadenantes del proceso que causan la leucemia de linfocitos T^{1,2}. Más tarde, en 1986 un comité internacional de taxonomía viral sugirió la denominación de virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), para designar a LAV y HTLV-III, dado que ambos virus correspondían al mismo agente¹. El VIH ataca diversos tipos de células del organismo humano infectado con predilección por los linfocitos T CD4⁺, provocando el descalabro de su sistema inmunitario³. La consecuente disminución de esta subpoblación linfocitaria confiere al paciente vulnerabilidad ante cualquier infección “oportunistas” causada por agentes que en circunstancias normales no dañarían a una persona sana⁴.

Se estima que aproximadamente 52,5 millones de personas en el mundo entero son portadoras del VIH y cerca de 22 millones de pacientes han muerto a causa del SIDA³. Más de las dos terceras partes de la población mundial infectada vive en el África Sub-Sahariana^{3,5}.

En América Latina, se estima que aproximadamente 1,5 millones de personas (adultos y niños) se encuentran infectadas por el VIH⁶. En general, estas cifras revelan que a partir de su primera identificación, hace más de veinte años, la incidencia de VIH/SIDA se ha elevado vertiginosamente en la población mundial, excediendo las expectativas de su impacto en cuanto a número de pacientes infectados y severidad de la enfermedad.

A continuación se tratarán aspectos fundamentales sobre la biología molecular del VIH con especial énfasis en las características estructurales del virus, su modo o estrategia de replicación y el influjo de su variabilidad genética en el control de la infección viral.

Características estructurales y organización genómica del VIH

El VIH pertenece a una familia de virus ARN designada *Retroviridae*¹. El virión infeccioso del VIH se observa al microscopio electrónico como una partícula esférica de aproximadamente 80 a 100 nm de diámetro. En la estructura del virión se distinguen tres capas concéntricas: una envoltura lipoproteica externa constituida por las dos glicoproteínas de la envoltura viral: la gp120 o glicoproteína de superficie y la gp41, unida a la anterior y embebida en la membrana lipídica del virus; una nucleocápside formada por una cubierta intermedia o matriz compuesta por la proteína p17 en estructura icosaédrica, localizada a muy poca distancia de la envoltura externa (a diferencia del HTLV-I y HTLV-II) y una cápside interna, constituida por la proteína p24 en disposición helicoidal y la proteína p9 (proteína de la nucleocápside), la cual encierra al genoma viral y a las enzimas transcriptasa reversa, integrasa y proteasa, formando un nucleoide central cuya estructura semeja a un cono truncado (Figura 1)⁷.

El genoma viral consiste en dos hebras de ARN de 9,8 kb de longitud y polaridad positiva, el cual contiene al menos 9 genes dife-

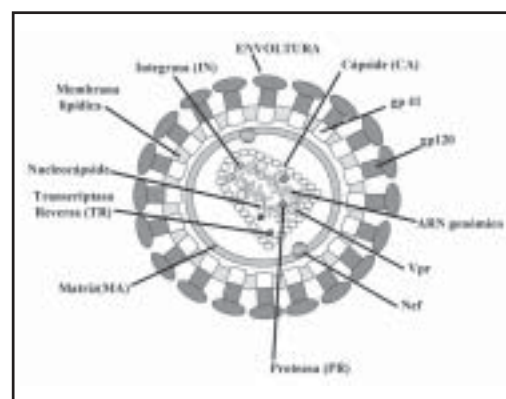


Figura 1. Estructura del Virus de Inmunodeficiencia Humano.



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
Biología Molecular
del Virus
de Inmunodeficiencia
Humana (VIH)

rentes que codifican proteínas estructurales, reguladoras y accesorias (Figura 2)⁷. Los genes virales estructurales son: el gen *gag*, el cual codifica la proteína precursora denominada p55 de cuyo clivaje producido por la proteasa viral se originan las proteínas estructurales de la cápside o CA (p24), matriz o MA (p17), nucleocápside o NC (p9) y la proteína p6, la cual media la incorporación de la proteína accesoria Vpr en el ensamblaje viral y es requerida para la gemación de viriones a partir de la célula infectada⁸; los genes *gag/pol* en conjunto codifican una poliproteína precursora de 160 Kd (p160), la cual es clivada durante la maduración del virión para dar origen a las enzimas: proteasa o PR (p10), transcriptasa reversa o TR (p50), Rnasa H (p15) e integrasa o IN (p31). Este clivaje no se produce de manera eficiente, ya que el 50% de la proteína RT permanece unida a Rnasa H, formando un polipéptido simple (p65)⁹; el gen *env* codifica a la poliproteína gp160, la cual es luego clivada por una proteasa de la célula hospedera en las glicoproteínas de envoltura: gp120 o SU (superficie) y gp41 o TM (transmembrana)⁷. Así mismo, existen los siguientes genes reguladores en el genoma del VIH: el gen *tat* que codifica una proteína transactivadora transcripcional, denominada Tat (p14)¹⁰ y el gen *rev* (regulador de la expresión de las proteínas del virión) codifica la proteína Rev (27 Kd) de unión de secuencia específica al ARN, la cual actúa como procesadora del ARNm y su transporte selectivo en el citoplasma¹¹. Las proteínas Tat y Rev son esenciales para la replicación del virus. En adición, se han descrito genes codificantes de proteínas accesorias. Tal es el caso de los genes: *nef* que codifica la proteína Nef (p27) un factor de regulación negativa que actúa post-traduccionalmente, disminuyendo la expresión en la superficie de la célula infectada de moléculas CD4 (receptor primario del VIH) y de moléculas clase I del Complejo Principal de Histocompatibilidad (CMH)^{12,13}; *vif* codifica la proteína Vif (factor de infectividad del virión, p23) la cual solventa los efectos inhibitorios de factores celulares del organismo infectado, produciendo la formación de complejos de TR más estables¹⁴; *vpr* codifica la proteína Vpr (proteína viral U o p16), la cual promueve la degradación de las moléculas CD4 acomplejadas con Env en el retículo endoplasmático celular e incrementa la libe-

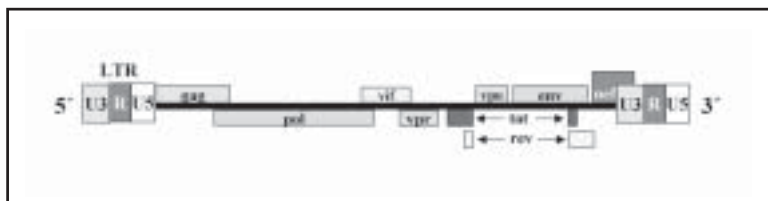


Figura 2. Organización del genoma proviral del Virus de Inmunodeficiencia Humano.

ración del virión¹⁵; *vpr* codifica a la proteína Vpr (proteína R viral o p15), la cual promueve el detenimiento del ciclo celular G2, facilitando además la infección por VIH en los macrófagos¹⁶.

Ciclo infeccioso del VIH

El VIH infecta principalmente células del sistema inmunitario, tales como los linfocitos T CD4+, monocitos y macrófagos tisulares. Sin embargo, otras células que expresen en su superficie moléculas CD4 igualmente pueden ser infectadas¹⁷. En adición, se han encontrado otros posibles receptores, lo cual sugiere que el número de células susceptibles sea especialmente elevado¹⁸.

Adsorción y penetración

Las dos glicoproteínas de envoltura forman unidades triméricas funcionales cuyos monómeros están constituidos cada uno por dos subunidades, gp120 (proteína de superficie) y gp41 o proteína transmembrana (Figura 3). Como parte del complejo trimolecular, la glicoproteína gp120 interactúa con su receptor específico, la molécula CD4 presente en la membrana celular, induciendo cambios conformacionales en la glicoproteína gp41, lo cual permite la unión del virión a receptores de membrana acoplados a la proteína G de la célula, estabilizando el proceso de adhesión y facilitando la fusión virus-célula. Estos coreceptores del VIH consisten en al menos doce receptores de quimoquinas de los cuales se ha demostrado que CCR5 y CXCR4 son importantes coreceptores primarios en la entrada de diversas cepas del VIH tanto *in vitro* como *in vivo*^{19,20}.

El cambio conformacional de la glicoproteína transmembrana gp41 y su disociación de

gp120 en la unidad trimérica permite la proyección de tres dominios de fusión que se insertan en la bicapa lipídica de la célula hospedera, lo cual promueve el proceso de fusión, permitiendo la liberación de la cápside viral en el interior de la célula. Así mismo, los viriones del VIH pueden entrar a las células por endocitosis. Por lo general, no se produce la infección productiva por esta vía, lo cual permite suponer la inactivación de estos viriones dentro de los endosomas²¹.

Transcripción y replicación viral

En el citoplasma de la célula se produce la decapsidación del virión, liberando el ARN genómico viral, el ARN de transferencia lisina, el cual actúa como un cebador para la transcripción reversa, la transcriptasa reversa, la integrasa, las proteínas de la matriz y la nucleocápside, la Vpr y diversas proteínas del hospedero (Figura 3). Posteriormente, se produce la transcripción reversa del ARN genómico a ADN viral por acción de la transcriptasa reversa y se forma el complejo de preintegración del VIH (CPI), constituido por el ADN viral de doble cadena, proteínas de la matriz, Vpr, las enzimas transcriptasa reversa e integrasa y el grupo de proteínas celulares de unión al ADN de elevada movilidad (en inglés, HMGI) ²². A diferencia de la mayoría de los retrovirus animales, el VIH puede infectar células que no se encuentran en estado de división, tales como macrófagos diferenciados, lo cual requiere de la capacidad de cruzar la membrana nuclear intacta²³.

El CPI es transportado al interior del núcleo a través de un proceso mediado probablemente por las proteínas de la matriz, Vpr y/o integrasa^{22, 24, 25}.

El ADN viral se incorpora al genoma de la célula infectada para formar un provirus integrado mediante la acción de la integrasa viral. Las proteínas celulares HMGI(Y) y BAF ("barrier to autointegration", en inglés) son requeridas para la integración eficiente, aunque no se conocen sus funciones precisas²⁶. La integración puede permitir formas transcripcionalmente activas o latentes de la infección²⁷.

La transcripción del genoma viral resulta en más de una docena de diferentes transcritos específicos. El proceso de transcripción es mediado por un promotor simple en la secuencia repetida terminal (LTR, en inglés) situada hacia el extremo 5'. La expresión del LTR 5' genera un ARN primario de 9 kb, el cual puede ser procesado para originar más de treinta ARNms alternativos o bien puede permanecer sin procesar y ser empaquetado dentro de los viriones como ARN genómico. Algunos transcritos procesados en forma múltiple son transportados rápidamente al citoplasma en ausencia de secuencias de ARN inhibitorias (IRS, en inglés). Estos ARNms codifican las proteínas Nef, Tat y Rev. Otros transcritos procesados de manera simple o no procesados permanecen en el núcleo y son relativamente estables. Estos transcritos virales codifican las proteínas estructurales,



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
Biología Molecular
del Virus
de Inmunodeficiencia
Humana (VIH)

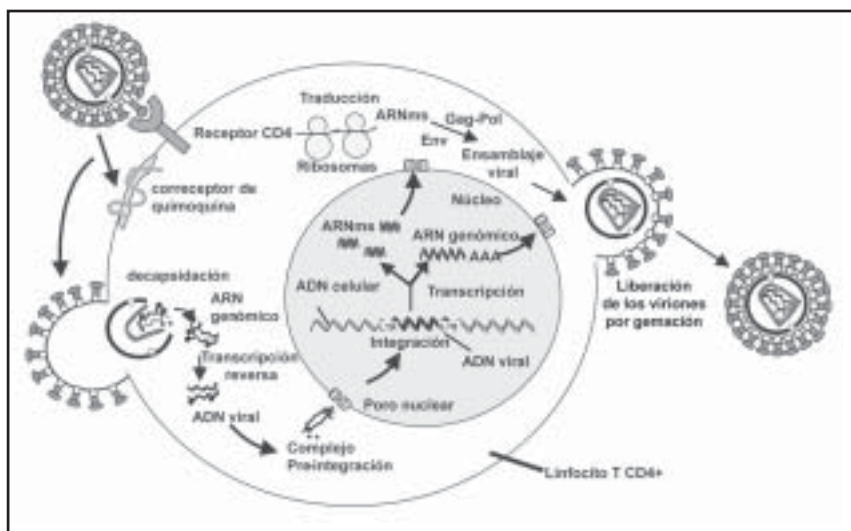


Figura 3. Ciclo infeccioso del VIH.

enzimáticas y accesorias y representan los ARNs genómicos virales necesarios para el ensamblaje de los viriones infecciosos²⁸.

La regulación de la expresión genética del VIH es efectuada por una combinación de factores virales y celulares, siendo regulada a nivel transcripcional y posttranscripcional. Los genes del VIH pueden ser divididos en genes tempranos y genes tardíos. Los genes tempranos: *tat*, *rev* y *nef* son expresados de una manera independiente de la proteína Rev. Los ARNs codificantes de los genes tardíos: *gag*, *pol*, *env*, *vpr*, *vpu* y *vif* requieren a Rev para ser localizados en el citoplasma y expresados²⁹.

La proteína Tat de 14 Kd se une a una estructura en el extremo 5' de los ARN virales, denominada elemento de respuesta de la transactivación (TAR, siglas en inglés). Esta unión se produce conjuntamente con algunas proteínas celulares que contribuyen al efecto del Tat. La unión de Tat a TAR activa la transcripción del LTR del VIH en a menos 1000 veces, promoviendo la fase de elongación de la transcripción del VIH-1 para que puedan ser producidos los transcritos completos. Por otra parte, la proteína Rev induce la transición de la fase temprana a la fase tardía de la expresión genética del VIH. La unión de Rev a su sitio de unión específica en el ARN viral ("Rev response element, RRE" en inglés) facilita la exportación de ARNs virales que contienen intrones (secuencias parcialmente o no procesadas) desde el núcleo al citoplasma. De esta manera, Rev disminuye la tasa de procesamiento del ARN viral. Los provirus que carecen de la proteína Rev funcional son transcripcionalmente activos pero no expresan los genes virales tardíos y por ende no producen viriones³⁰.

En contraste a Tat y Rev, los cuales actúan directamente sobre estructuras del ARN viral, la proteína Nef (27 Kd) modifica el medio ambiente de la célula infectada para optimizar la replicación viral e igualmente promueve la liberación de viriones más infecciosos^{31, 32}.

Otras proteínas virales igualmente participan en la modificación del medio ambiente en células infectadas. Tal es el caso de Vpr (15 Kd) cuya expresión es dependiente de Rev.

Esta proteína induce el detenimiento de la proliferación de células infectadas en la fase G2/M del ciclo celular, lo cual puede incrementar la expresión genética viral³³.

Ensamblaje viral y liberación de los viriones: Las nuevas partículas virales son ensambladas hacia la membrana plasmática (Figura 3). Diversas proteínas participan en el proceso de ensamblaje, incluyendo las poliproteínas Gag y Gag-Pol, al igual que Nef y Env. Una proteína humana de unión al ATP, denominada HP68, facilita los cambios conformacionales necesarios en Gag para el ensamblaje de las cápsides virales. La proteína Vif de 23 Kd juega un papel clave pero no bien entendido en el ensamblaje de los viriones infecciosos³⁴. En ausencia de Vif, se producen niveles normales de virus pero estas partículas virales no son infecciosas, lo cual trae como consecuencia la detención de los niveles de transcripción reversa en la célula infectada³⁵.

Luego del ensamblaje de los viriones, en el momento final de la maduración y gemación de las partículas se incorporan lípidos de la membrana de la célula infectada, así como las glicoproteínas virales de envoltura gp41 y gp120³⁴. Finalmente, se produce la salida por gemación a través de la membrana celular de los viriones maduros al exterior (Figura 3).

Clasificación del VIH

El SIDA es causado por dos diferentes lentivirus, pertenecientes a la familia Retroviridae, los cuales desde el punto de vista genético y antigénico se distinguen en: VIH tipo 1 (VIH-1), responsable de la pandemia a nivel mundial y el VIH tipo 2 (VIH-2), comúnmente encontrado en el Oeste de África y en la India³⁶. Análisis filogenéticos han demostrado que el VIH-2 se encuentra estrechamente relacionado con el virus de la inmunodeficiencia del simio (SIV, siglas en inglés), presentando una homología del 75% con este virus³⁷. Desde el punto de vista clínico, el VIH-2 se diferencia del VIH-1 en que la enfermedad que produce es menos agresiva, parece evolucionar más lentamente hacia la destrucción del sistema inmunitario, su transmisión vertical (madre-hijo) parece ser más difícil y existe variación en la regulación del virus a

nivel genético³⁸. Por otra parte, los genomas del VIH-1 y VIH-2 tienen una similitud de sólo el 40-50%. Sin embargo ambos ocasionan una enfermedad clínicamente indistinguible³⁷. Los análisis filogenéticos de secuencias pertenecientes a los genes *env* y *gag* de diversos aislados del VIH-1 han demostrado la existencia de al menos 8 subtipos genéticos o clados del VIH-1, los cuales han sido designados como subtipos: A, B, C, D, E, F, G y H^{39, 40}. Estos subtipos genéticos forman el grupo principal o M (“major”, en inglés), responsable de la mayoría de los casos de SIDA en el mundo. Un segundo grupo de aislados muy heterogéneo, pertenecen al grupo O (“outliers” en inglés), el cual presenta al menos 3 subtipos y es encontrado en Cameroon, Gabon y Guinea Ecuatorial. Finalmente, el grupo N (“new”, en inglés) fue identificado en 1998 en dos pacientes de Cameroon^{41, 42}. Así mismo, se conocen al menos 5 subtipos del VIH-2³⁷.

Diversas estrategias metodológicas se han desarrollado para la caracterización y clasificación de los subtipos genéticos virales del VIH. Aunado a los estudios filogenéticos y de secuenciación, se ha implementado el análisis de la movilidad del ADN “heteroduplex” (“DNA heteroduplex mobility assay”, HMA) en los genes principales del virus a partir de células mononucleares de sangre periférica infectadas e inmunoensayos enzimáticos con péptidos sintéticos derivados de la tercera región inconstante (V3) de la gp120 viral^{43,44}. Es importante destacar que los diferentes subtipos genéticos o clados, no son necesariamente equivalentes a los subtipos antigénicos, cuya relevancia en la protección inducida por vacunas es poco conocida hasta el presente⁴⁵.

Distribución geográfica de los subtipos genéticos del VIH-1

Los subtipos genéticos del VIH-1 se encuentran distribuidos en diferentes regiones geográficas. Cepas virales pertenecientes al clado B prevalecen en América del Norte, América Latina y el Caribe, Europa, Japón y Australia. Casi todos los subtipos están presentes en el África sub-Sahariana. Los subtipos A y D predominan en el centro y oeste de África,

mientras que el subtipo C prevalece en el sur del Continente Africano^{37, 39}. En la actualidad, los virus pertenecientes al subtipo C presentan una amplia distribución geográfica, siendo responsables de la mayoría de las infecciones recientes a nivel mundial, incluyendo Asia, lo cual constituye un aspecto a considerar en el desarrollo de vacunas⁴⁶. El subtipo E fue identificado inicialmente en Tailandia e igualmente se encuentra presente en la República Central Africana^{39, 47}. El subtipo F predomina en América del Sur aunque fue descrito inicialmente en Brasil y en Rumania⁴⁸. El subtipo G fue encontrado en Rusia y Gabon, mientras que virus del subtipo H fueron aislados en Zaire y Camerún^{40,49}.

Variabilidad genética del VIH

La replicación del VIH mediante el uso de una transcriptasa reversa, carente de una capacidad de corrección de lectura perfecta, permite la producción de una elevada tasa de errores a nivel genómico, lo cual resulta en cambios de aproximadamente 10 bases genómicas por ciclo de replicación. Diversas mutaciones en el genoma viral, tales como: sustituciones, inserciones y deleciones, igualmente se producen con una frecuencia difícil de estimar³⁸. Esta alta tasa de error en la replicación, la elevada producción de viriones (10⁹ partículas virales) por día *in vivo*, la población cada vez más creciente de individuos afectados y la persistencia de la infección permite la generación de diversidad viral en 6 órdenes de magnitud por encima de la observada en las familias de genes de mamíferos⁵⁰. El gen *env* parece estar sujeto a la mayor variación genética, particularmente en la región V3 aunque en los otros genes igualmente pueden ocurrir alteraciones⁵¹.

El VIH-1 presenta una variabilidad genética continua en el organismo de un individuo infectado, dando origen a múltiples variantes a las cuales se les ha denominado “cuasi-especies virales”, cuya heterogeneidad es de aproximadamente 2-5% en el gen *env*⁵¹. Por otra parte, estudios de secuencias y análisis filogenéticos del gen *env* han demostrado un amplio rango de divergencia (20-30%) entre aislados de distintas regiones del planeta. Este fenómeno es atribuido a la amplia distribución geográfica y a la diversidad genética in-



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
Biología Molecular
del Virus
de Inmunodeficiencia
Humana (VIH)

tra e inter-subtipos del VIH-1^{38, 47, 52}. Por esta razón, el desarrollo de vacunas basado en una protección inmunitaria del individuo dependiente de secuencias variables del VIH podría requerir la adaptación continua de vacunas específicas, como es el caso de las vacunas contra el virus de la influenza⁵³.

La variabilidad genética del VIH-1 se ha correlacionado igualmente con características de crecimiento de cepas virales *in vitro*. Los viriones provenientes de pacientes con infección en etapa tardía podrían inducir la formación de sincicios (SI) cuando son cultivados en líneas de linfocitos T inmortalizados, mientras que virus obtenidos de pacientes en la etapa temprana de la infección no tienen la capacidad de formar sincicios (NSI) ni de replicarse en estas líneas celulares sino más bien en cultivos primarios de células CD4+ (linfocitos T y macrófagos)¹⁸.

Adicionalmente, se ha evidenciado que la recombinación entre subtipos diferentes del VIH-1 (A/E, A/C, B/F, etc.) ocurre frecuentemente *in vivo*, generando virus viables con genomas mosaicos, fenómeno que contribuye con la variabilidad genética de este agente viral^{18, 54, 55, 56}. La presencia de estos virus recombinantes indica que la coinfección o la superinfección con diferentes variantes virales del VIH-1 se produce con frecuencia, sugiriendo que la infección activa con una cepa viral no necesariamente confiere una protección total contra la infección originada por otra cepa^{57, 58}.

Consideraciones finales

La presencia de formas latentes del VIH estables permiten explicar la naturaleza crónica de la infección. El estudio de métodos terapéuticos efectivos contra los reservorios de estas formas latentes contribuirá con la erradicación del virus.

La evaluación de los niveles de viremia mediante el análisis de carga viral del ARN genómico y ADN proviral aporta una importante información sobre el curso de la infección producida por VIH. Se ha demostrado que la determinación del ARN viral constituye un buen marcador en el monitoreo de la eficacia del tratamiento antiretroviral¹⁸. Se requiere de futuras investigaciones que per-

mitan dilucidar la relación entre la carga de ADN proviral y la respuesta al tratamiento. El impacto de la diversidad genética del VIH-1 en el desarrollo de drogas y vacunas contra la infección producida por este agente viral permanece incierto⁴⁶. Desde el punto de vista biológico, los principales obstáculos en el desarrollo de una vacuna preventiva y/o una terapia adecuada, comprenden: 1) la integración del ADN genómico en sitios activos del cromosoma celular, permitiendo una infección persistente que conduce finalmente a la destrucción de las células afectadas y su progenie; 2) la falta de un modelo experimental animal pequeño y realmente accesible para estudiar los mecanismos de citopatogénesis viral; 3) la variabilidad genética del VIH que ha permitido la emergencia de cepas virales resistentes a drogas y 4) la predilección del VIH en infectar células del sistema inmunitario y utilizar las mismas vías de activación inmunitaria para su propia replicación.

La extensa variabilidad genética observada en el VIH ha contribuido a limitar el conocimiento íntimo de los mecanismos patogénicos de progresión hacia el SIDA, lo cual ha influido a su vez en el desarrollo de pruebas diagnósticas, la falta de información sobre sus mecanismos de transmisión y posibles estrategias de prevención, el desarrollo de tratamientos y vacunas eficaces y finalmente, la aparición de cepas del virus resistentes a drogas antivirales.

Actualmente, la emergencia de variantes virales resistentes a múltiples drogas ("multidrug resistant", MDR en inglés) es cada vez mayor en pacientes tratados con dos o más clases de fármacos anti-retrovirales diferentes. Se ha sugerido que la presencia de una presión inmunológica selectiva por droga hace que el virus resistente sea el más competente (o "fit" en inglés) para replicarse y diseminarse en el organismo del individuo infectado. Sin embargo, a pesar de una disminución inicial y transitoria de "fitness" viral, las variantes MDR pueden conservar una óptima capacidad de replicación debido a la acumulación de mutaciones compensatorias. No obstante, aún no está claro cómo este "fitness" relativamente reducido pudiera eventualmente afectar el estado clínico de pacientes infectados con variantes MDR del VIH-1. Diversos

resultados obtenidos de experimentos realizados *in vitro* han propuesto que el potencial patogénico del VIH-1 se correlaciona con su capacidad de replicación⁵⁹. En la actualidad, se están desarrollando nuevas técnicas para determinar el potencial de replicación y comparar el “fitness” viral con la heterogeneidad genética del VIH-1.

REFERENCIAS

- Gallo R.C.: The AIDS virus. Sci. Am. 1987; 256(1): 46-56.
- Laurence J.: The immune system in AIDS. Sci. Am. 1985; 253(6): 84-93.
- Silbanda E.N, Stanczuk G., Kasolo F.: HIV/AIDS in Central Africa: patogénesis, inmunológica y médica. Int. Arch. Allergy Immunol. 2003; 132 (3): 183-95.
- Bushman F, Landal NR y Emini EA.: New developments in the biology and treatment of HIV. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998; 95: 11041-11042.
- Piot P, Bartos M., Ghys PD, Walker N, Schwartlander B.: The global impact of HIV/AIDS. Nature 2001; 410 (6831): 968-73.
- Clark S. Experts predict global devastation due to HIV/AIDS. Lancet 2002; 360 (9327): 45.
- Turner BG, Summers MF.: Structural biology of HIV. J Mol Biol. 1999; 285(1): 1-32.
- Gotlinger HG, Sodroski JG, Haseltine WA.: Role of capsid precursor processing and myristylation morphogenesis and infectivity of human immunodeficiency virus type 1. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989; 86: 5781-5785.
- Parkin NT, Chamorro M, Varmus HE.: Human immunodeficiency virus type 1 gag-pol frameshifting is dependent on mRNA secondary structure. Demonstration by expression in vivo. J Virol. 1992; 66: 5147-5151.
- Ruben S, Perkins A, Purcell R. Structural y funcional characterization of human immunodeficiency virus tat protein. J Virol. 1989; 63: 1-8.
- Fisher U, Huber J, Boelens WC.: The HIV-1 Rev activation domain is a nuclear export signal that accesses an export pathway used by specific cellular RNAs. Cell 1995; 82: 475-483.
- García JV, Miller AD.: Downregulation of cell surface CD4 by *nef*. Res. Virol. 1992; 143: 52-55.
- Schwartz O, Marechat V, Le Gall S.: Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein. Nature Medicine 1996; 2: 338-342.
- Hoglund S, Ohagen A, Lawrence K.: Role of *vif* during packing of the core of HIV-1. Virology 1994; 201(2): 349-355.
- Schubert D, Bour S, Ferrer-Montiel AV.: The two biological activities of human immunodeficiency virus type 1. Vpu protein involve two separable structural domains. J. Virol. 1996; 70: 809-819.
- Jowett JB, Planelles V, Poon B. The human immunodeficiency virus type 1 vpr gene arrests infected T cells in the G2+M phase of the cell cycle. J Virol 1995; 69: 6304-6313.
- Wassef NM, Young J y Miller R.: Viral reservoirs/transient infection in HIV/AIDS: Where are we now and where should we go?. AIDS Research and Human Retroviruses. 2003; 19:333-344.
- Katzenstein TL.: Molecular biological assessment methods and understanding the course of the HIV infection. APMIS Suppl. 2003; 114: 1-37.
- Doms RW y Trono D.: The plasma membrane as a combat zone in the HIV battlefield. Genes Dev. 2000; 14(21): 2677-88.
- Zaitseva M, Peden K y Golding H.: HIV coreceptors: role of structure, posttransfusal modifications, and internalization in viral-cell fusion and as targets for entry inhibitors. Biochim Biophys Acta. 2003; 1614(1): 51-61.
- Chan DC y Kim PS.: HIV entry and its inhibition. Cell 1998; 93(5): 681-4.
- Miller MD, Farnet CM, Bushman FD.: Human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes: studies of organization and composition. J Virol. 1997; 71(7): 5382-90.
- Pemberton LF, Blobel G, Rosenblum JS.: Transport routes through the nuclear pore complex. Curr Opin Cell Biol. 1998; 10(3): 392-9
- Bukrinsky MI, Haggerty S, Dempsey MP, Sharova N, Adzhubel A, Spitz L, Lewis P, Goldfarb D, Rafner L, Stevenson M, Emerman M.: The Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1994; 91(15): 7311-5.
- Gallay P, Hope T, Chin D, Trono D.: HIV-1 infection of nondividing cell through the recognition of integrase by the importin/karyopherin pathway. Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94(18): 9825-30.
- Chen H, Engelman A.: The barrier to autointegration protein is a host factor for HIV type 1 integration. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95(26): 15270-4.
- Adams M, Sharmeen L, Kimpton J, Romeo JM, García JV, Peterlin BM, Groudine M, Emerman M.: Cellular latency in human immunodeficiency virus infected individuals with high CD4 levels can be detected by the presence of promoter-proximal transcripts. Proc Natl Acad Sci USA. 1994; 91(9): 3862-6.
- Saltarelli MJ, Hadziyannis E, Hart CE, Harrinson JV, Felber BK, Spira TJ, Pavlakis GN. : Analysis human immunodeficiency virus type 1 mRNA splicing pattern during disease progression in peripheral blood mononuclear cells from infected individuals. AIDS Res Hum Enteroviruses. 1996; 12(15): 1443-56.
- Pandori MW, Fitch NJ, Craig HM y col.: Producer-cell modification of human immunodeficiency virus type 1: Nef is a virion protein. J. Virol. 1996; 70: 4283-4290.
- Felber BK, Drysdale CM, Pavlakis GN.: Feedback regulation of human immunodeficiency virus type 1 expression by the Rev protein. J. Virol. 1990; 64: 3734-3741.
- Zheng YH, Plemenitas A, Linnemann T, Fackler OT, Peterlin BM.: Nef increases infectivity of HIV via lipid rafts. Curr Biol. 2001; 11(11): 875-9.
- Miller MD, Warmerdam MT, Gaston I y col. The human immunodeficiency virus-1 nef gene product.: A positive factor for viral infection and replication in primary lymphocytes and macrophages. J. Exp. Med. 1994; 179: 101-113.
- Jowett JB, Planelles V, Poon B, Shah NP, Chen ML, Chen IS.: The human immunodeficiency virus type 1 vpr gene arrests infected T cells in the G2+M phase of the cell cycle. J Virol. 1995; 69(10): 6304-13.
- Zimmerman C, Klein KC, Kiser PK, Singh AR, Firestein BL, Riba SC, Lingappa JR.: Identification of a host protein essential for assembly of immature HIV-1 capsids. Nature 2002; 415(6867):88-92.



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
Biología Molecular
del Virus
de Inmunodeficiencia
Humana (VIH)

35. Madani N, Kabat D.: An endogenous inhibitor of human immunodeficiency virus in human lymphocytes is overcome by the viral Vif protein. *J Virol.* 1998; 72(12): 10251-5.
36. Korber B, Theiler J y Wolinsky S.: Limitations of a molecular clock applied to considerations of the origin of HIV-1. *Science.* 1998; 280: 1868-1870.
37. Korber BTM, Allen EE, Farmer AD, Myers GL: Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2. *AIDS* 1995; 9 (suppl A): S5-S18.
38. Sharp PM, Robertson DL, Gao F, Hahn B.: Origins and diversity of human immunodeficiency virus. *AIDS* 1994; 4 (suppl1): S27-S42.
39. Louwagie J, McCutchan FE, Peteers M, Brennan TP, Sanders-Buell E, Eddy GA, van der Groen G, Fransen K, Gershey-Damet G-M, Deleys R, Burke DS: Comparison of gag genes from seventy international HIV-1 isolates provides evidence of multiple genetic subtypes. *AIDS* 1993; 7: 769-780.
40. Janssens W, Heyndrickx L, Fransen K, Motte J, Peeters M, Nkengasong JN, Ndumbe PM, Delaporte E, Perret J-L, Atende C, Piot P, van der Groen G.: Genetic and phylogenetic analyses of env subtypes G and H in Central Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1994. 10: 877-879.
41. Gürtler L, Hauser PH, Eberle J, von Brunn A, Knapp S, Zekeng L, Tsague JM, Kaptue L.: A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MPV 5180) from Cameroon. *J Virol.* 1994. 68: 1581-1585.
42. Weiss RA, Wrangham RW.: From Pan to pandemic. *Nature.* 1999; 397: 385-386.
43. Delwart EL, Shpaer EG, Louwagie J, McCutchan FE, Grez M, Rübsamen-Waigmann H y Mullins JI.: Genetic relationships determined by a DNA heteroduplex mobility analysis of HIV-1 env genes. *Science.* 1993; 262: 1257-1261.
44. Alcaro MC, Peroni E, Rovero P, Papini AM.: Synthetic peptides in the diagnosis of HIV infection. *Curr Protein Pept Sci.* 2003; 4(4): 285-90.
45. Esparza J y Osmanov S.: HIV vaccines: a global perspective..*Curr. Mol. Med.* 2003; 3(3): 183-93.
46. Gaschen B, Taylor J, Yusim K.: Diversity consideration in HIV-1 vaccine selection. *Science* 2002; 296(5577): 2354-60.
47. Kalish ML, Baldwin A, Raktham S, Wasi C, Luo C-C, Schochetman G, Mastro T, Young N, Vanichseni S, Rübsamen-Waigmann H, von Briesen H, Mullins JI, Delwart E, Herring B, Esparza J, Heyward WL, Osmanov S.: The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand: Implications for HIV vaccine trials. *AIDS.* 1995; 9(8): 851-7.
48. Dumitrescu O, Kalish ML, Kliks SC, Bandea CL, Levy JA.: Characterization of human immunodeficiency virus type 1 isolates from children in Romania: Identification of a new envelope subtype. *J Infect Dis.* 1994; 169: 281-288.
49. Bobkov A, Cheingson-Popov R, Garaev M, Rzaninova A, Kaleebu P, Beddows S, Bachmann MH, Mullins JI, Louwagie J, Janssens W, van der Groen G, MacCutchan FE, Weber J.: Identification of an env G subtype and heterogeneity of HIV-1 strains in the Russian Federation and Belarus. *AIDS.* 1994; 8: 1649-1655.
50. Walker BD, Korber BT. Immune control of HIV: the obstacles of HLA and viral diversity. *Nat Immunol.* 2001; 110(2): 135-8.
51. Wain-Hobson S.: The fastest genome evolution ever described: HIV variation in situ. *Curr Opin Genetics and Development* 1993; 3: 878-883.
52. Papathanasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT.: Evolution and diversity of HIV-1 in Africa- a review. *Virus Genes.* 2003; 26(2): 151-63.
53. Osmanov S, Heyward WL, Esparza J.: HIV-1 genetic variability: implications for the development of HIV vaccines. *Antibiotics and Chemotherapy.* 1996; 48: 30-38.
54. Robertson DL, Sharp PM, McCutchan FE, Hahn BH.: Recombination in HIV-1. *Nature* 1995; 374: 124-126.
55. Sabino EC, Shapaer EG, Morgado MG, Korber BTM, Daiz RS, Bongertz V, Cavalcante S, Galvao-Castro B, Mullins JI, Mayer A.: Identification of HIV-1 envelope genes recombinant between subtypes B and F in two epidemiologically-linked individual from Brazil. *J Virol.* 1994; 68:6340-6346.
56. Comez Carrillo M, Salomon H, Pando MA, Kijak G, Avila MM.: Distribution of subtypes and recombinant of HIV. Situation Argentina. *Medicina (B. Aires).* 2001; 61(6): 881-9.
57. Negroni M y Buc H.: Mechanisms of retroviral recombination. *Annu Rev Genet.* 2001; 35: 275-302.
58. Allen TM y Altfeld M.: HIV-1 superinfection. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 112(5): 829-35.
59. Maldarelli F.: HIV-1 fitness and replication capacity: what are they and can they help in patient management?. *Curr Infect Dis Rep.* 2003.; 5(1): 77-84.