

236



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DEL
VIRUS VIH

T E S I S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA
P R E S E N T A
RUTH VARGAS GARDUÑO

DIRECTOR: C.D. JOSÉ LUIS TAPIA VÁZQUEZ
ASESORA: C.D.MO. BEATRÍZ C. ALDAPE BARRIOS

V. B.
[Signature]

[Signature]
V. B.



MÉXICO, D.F.

2000

10042
274001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

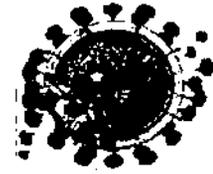
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



INDICE

INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	4
VIRUS (Generalidades)	7
VIRUS (VIH)	8
<i>Estructura del VIH</i>	9
<i>Genes que codifican al VIH</i>	9
<i>Funciones de los genes del VIH</i>	9
<i>Proteínas Reguladoras del VIH</i>	10
<i>Ciclo Biológico del VIH</i>	14
<i>Ciclo Vital del VIH</i>	17
<i>Resistencia a la infección del VIH</i>	22
CONCLUSIONES	33
GLOSARIO	36
BIBLIOGRAFÍA	38



INDICE DE ILUSTRACIONES

TABLA 1. Clasificación de los Virus.....	7
TABLA 2. Principales Genes del VIH.....	11
FIGURA 1. Organización del Genoma del VIH.....	12
FIGURA 2. Replicación del VIH.....	19
FIGURA 3. Fases de la Infección del VIH.....	26
FIGURA 4. Acoplamiento del Receptor CD4 al correceptor CCR5.....	27



INTRODUCCIÓN

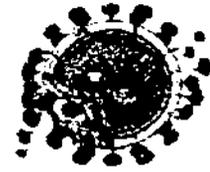
El objetivo de este trabajo es caracterizar al Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH); de que manera se transmite; sus características estructurales, sus principales proteínas, el ciclo biológico y su resistencia a la infección.

Como se sabe, es una enfermedad que ha transformado al mundo por el alto índice de infección presentado entre cada uno de los individuos sin importar a que grupo social se pertenece.

Desde un punto de vista biomédico ha sido fundamental, identificar al agente etiológico del VIH. El conocimiento de las interrelaciones entre las características biológicas del agente viral, los factores que permiten la entrada a la célula y los mecanismos patogénicos del virus sobre las células blanco, proporcionan la base médica para enfrentar esta epidemia.

Sin embargo, dada su gran complejidad, esto no basta para definir una estrategia de control, por lo que se requiere seguir avanzando en el estudio profundo del virus y los elementos que le son útiles para su desarrollo.

Este trabajo intenta presentar de una manera sencilla y a la vez práctica, las características que hacen del VIH, la pandemia del siglo XX.



ANTECEDENTES

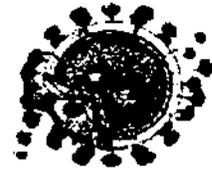
Se dice que la primera descripción de retrovirus animales tuvo lugar a comienzos del siglo XIX, con el trabajo de Ellerman, Bang y Rous quienes demuestran que los ultrafiltrados acelulares, procedentes de pollos leucémicos, pueden provocar leucemias o sarcomas en animales normales. Cuarenta años después Ludwik Graoss aísla al primer retrovirus de mamíferos a partir de una cepa endogámica de ratones infectados con virus de leucemia. Inmediatamente después son identificados por Harvey¹.

Mientras en 1970 Temin y Mizutina por un lado y Gallo por otro, descubren la transcriptasa inversa de los retrovirus, en 1974 Hill y Hillva descubren la existencia e integración del DNA infeccioso de los retrovirus. Es a partir de esto que se inicia la búsqueda del retrovirus humano mediante el desarrollo de técnicas de biología molecular encargadas de detectar la expresión de bajo nivel de la actividad de la transcriptasa inversa, así como técnicas de cultivo para el crecimiento a largo plazo de varias células hematopoyéticas. Este enfoque se basa en la identificación del retrovirus humano que requiere probablemente, el cultivo de células *diana* susceptibles y la detección de bajos niveles de virus (VIH).^{2,3}

La idea original de que el SIDA es causado por un retrovirus surge de los primeros estudios de HTVL-1 y el HTVL-2, a partir de las pruebas epidemiológicas que indican un agente transmisible como causa de la enfermedad. El SIDA aparece en una zona geográfica determinada, pero a medida que va diseminándose, aparece en un grupo social y económico distinto, lo cual demuestra el alto grado de contagio que esta tiene.

Los primeros estudios sobre la enfermedad se basaron en las siguientes hipótesis que trataban de explicar el proceso de transmisión:

- ❖ La transfusión del factor VII a personas con hemofilia da lugar a la transmisión de la enfermedad. Todos estos casos describían que la enfermedad de SIDA era realmente infecciosa transmisible.
- ❖ Una segunda línea de prueba se basaba en la aparente pérdida selectiva, de la población de linfocitos T colaboradores. Ello indica el tropismo restringido del agente causal, muy similar al que producen las infecciones por HTLV-1 y HTLV-2.



- ❖ En tercer lugar, la forma de transmisión, con la exposición sexual, perinatal y hemoderivados.
- ❖ En cuarto lugar, se sabe que otro retrovirus, el FeLV, también produce inmunosupresión, además de enfermedades linfoproliferativas.⁴

Conociendo estas pruebas circunstanciales que apuntaban a un retrovirus linfotrofo T humano como causa probable del SIDA, los equipos de investigación encabezado por Gallo y Montagnier, inician el aislamiento de estos virus con pacientes de SIDA y enfermedades relacionadas, mediante un enfoque experimental, que incluye el uso de IL-2 para estimular el crecimiento de células linfoides y análisis sensibles de la actividad de la transcriptasa inversa para detectar la expresión del virus a bajo nivel. Gallo encontró en 1982 pruebas de la existencia del retrovirus en linfocitos de pacientes con la enfermedad del SIDA.^{1,2}

Otro equipo de investigadores dirigido por Barré-Sinoussi, Chermann y Montagnier, detectan la transcriptasa inversa, asimismo, una proteína vírica central, la p 25, que no producía reacción inmunológica cruzada por la p 24 del HTLV-1.

La imposibilidad de propagar el virus, debido a la falta de reactivos antivíricos, impide llegar a la conclusión de que este virus asociado a la linfadenopatía (LAV), fuera de hecho, el agente etiológico del SIDA. Sin embargo, a finales del 1983, Provic y otros desarrollaron clones de una línea celular T4 (CD4) positiva de crecimiento permanente (HT), que era sensible a la infección de retrovirus de pacientes con SIDA, reconocidos previamente sólo por elevación transitoria de la transcriptasa inversa en cultivos linfocitarios de corta duración.^{5,6}

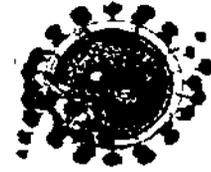
A medida que se desarrollaron análisis serológicos sensibles, para detectar la exposición al virus del SIDA, fue más claro poder identificar a éste como agente causal de la enfermedad. En un principio se le denomina como LAV o HTLV-III; posteriormente recibe, por acuerdo general, la denominación de VIH-1.

Características moleculares del virus VIH



La detección serológica de VIH-I en pacientes con SIDA y la actividad citopática de los VIH-I, biológica y molecularmente clonados "*in vitro*", son argumentos convincentes que respaldan el concepto del primer cultivo de HTLV-III que lo relaciona como agente causal del SIDA. Los análisis comparativos del HTLV-III y de LAV demuestran que ambos son del mismo grupo (VIH-I), quedando así establecida la etiología del SIDA.^{2,3}

En 1986 recibe la denominación de "Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)". Posteriormente se descubre un segundo virus, cuya característica lo presenta como virus endémico del Oeste de Africa, con similar modo de transmisión. Para distinguir entre éste y el VIH-1, se le denomina VIH-2. Tanto el VIH-1 como el VIH-2 producen síndromes clínicos similares, pero presentan una diferencia molecular en la reacción de los anticuerpos.^{2,3}



VIRUS (Generalidades)

Los virus son los elementos biológicos nocivos pequeños (nm); son parásitos intracelulares que carecen de capacidad enzimática; no poseen metabolismo, por lo tanto, no pueden multiplicarse por sí mismos. Lo hacen sólo en el interior de la célula viva valiéndose de materiales, reacciones enzimáticas y energéticas de la misma.

La terminología actual utiliza la palabra virión para designar la partícula virica madura que se encuentra en la porción extracelular; consta de un solo ácido nucleico, ARN o ADN (nunca los dos), envuelta en una cubierta protéica llamada cápside, que se compone de múltiples subunidades protéicas (capsomeros); dispuesta en una simetría helicoidal, la cápside protege al ácido nucleico cuando el virus se encuentra fuera de la célula. Existe una diversidad considerable entre los virus, tanto en su estructura física, como el contenido del ácido nucleico. Los viriones más complejos poseen, además de la cápside, otra envoltura que contiene lípidos y azúcares ligados a la proteína.^{1,2,3}

VIRUS QUE CONTIENEN ARN	VIRUS QUE CONTIENEN ADN
Picornaviridae, Calciviridae	Hepadnaviridae
Togaviridae, flaviviridae	Parvoviridae
Coronaviridae, Aeteroviridae	Circoviridae
Rhabdoviridae, Filovitidae	Adenoviridae
Paramixoviridae, Bunyaviridae	Herpesviridae
Arenaviridae, Orthomixoviridae	Poxiviridae
Retroviridae	Iridoviridae

TABLA 1² Esta tabla nos muestra los diferentes virus que contienen ADN y RNA.



VIRUS VIH

El virus del SIDA (VIH), pertenece a los retrovirus. Estos han sido divididos en tres subfamilias basándose en su patogenicidad.

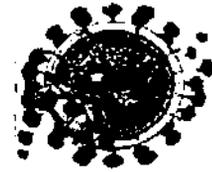
- ❖ **Oncovirae** se subdivide a su vez en cinco grupos dependiendo de su capacidad para inducir tumores;
- ❖ **Lentivirinae** se incluyen virus exógenos responsables de gran variedad de desordenes inmunológicos y neurológicos. La característica general de esta subfamilia es una infección lenta;
- ❖ **Spumaviridae** aparentemente inocua, presenta como característica una estructura espumosa en el citoplasma de las células que infectan.

El virus del SIDA se encuentra dentro de la segunda clasificación (**LENTIVIRINAE**). La biología de esta subfamilia es comprendida comparándolos con los virus que causan una enfermedad severa. La infección clásica viral consiste en tres fases:

- PRIMERA.** Periodo de diseminación del agente en células específicas, seguido de la infección en el huésped.
- SEGUNDA.** Periodo reproductivo del virus en la célula huésped.
- TERCERA** Eliminación del virus.

La disminución en la actividad del virus en esta fase, está asociada con la movilización de los mecanismos inmunológicos específicos. La enfermedad es el resultado de efectos patofisiológicos del virus, en células infectadas por los mecanismos inmunopatológicos asociados a la eliminación del virus.

La infección y la enfermedad causada por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) es la antítesis del concepto general de patogénesis de enfermedad viral. El VIH presenta un periodo de incubación que puede ir de unos cuantos meses a años, precediendo al desarrollo del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).³



Estructura del VIH

El virus del VIH es de forma esférica con un diámetro de entre 80 y 110 nanómetros. Este presenta tres capas concéntricas: la primera formada por una membrana lipídica de origen celular, que contiene dos proteínas virales asociadas. Una glicoproteína externa (gp 120) y una transmembranal (gp 41). Por debajo de esta envoltura se encuentra una segunda capa protéica formada por la polimerización de monómeros de la proteína viral (p17), dentro de la cual se encuentra una nucleocápside, constituida por la proteína (p 24) y dos moléculas de ARN viral, que son el material genético del virus. El ARN tiene asociadas moléculas de la enzima transcriptasa reversa (TR).^{3,4}

El genoma del VIH.-1 es un ARN de cadena única constituido por 2 hebras idénticas de 9,8Kb y de polaridad positiva, que poseen diferentes genes encargados de codificar distintas proteínas. Existen genes encargados de codificar los componentes de la partícula vírica (genes estructurales) y de regular la expresión de los mismos (genes reguladores).

Genes que codifican al VIH

Los tres genes principales que codifican las proteínas respectivas, correspondientes a los antígenos internos, son comunes a todos los retrovirus y son los que se denominan **gag** (de grupo), **pol** (polimerasa) y **env** (envoltura). De los genes estructurales, el gen **gag** codifica las proteínas del **core**; el gen **pol** codifica, fundamentalmente, las enzimas como la transcriptasa inversa y la proteasa y el gen **env** codifica las proteínas de la envoltura vírica.

Funciones de los genes del VIH

Entre las funciones principales del **gag** se encuentra la de constituir la mayor parte de la estructura del virión participando en la síntesis de ADN y su integración, además de contribuir al ensamblaje de las partículas víricas y su salida de la célula; el **pol** participa en la síntesis de ADN y su integración en el genoma celular, mientras que el **env** participa en la asociación y entrada del virus en la célula, por lo que se le considera como el antígeno de entrada.

Características moleculares del virus VIH



En contraposición con otros retrovirus, como el HTLV que sólo posee tres genes reguladores, el VIH posee al menos 7 de estos genes, que entre otras funciones, tienen la de expresar el material genético viral integrado en la célula, lo que los une de un modo importante con la latencia del virus en ella.^{2,3}

Proteínas reguladoras del VIH

Entre las proteínas reguladoras más importantes tenemos las **Tat** y **Rev** que son esenciales para la replicación del virus; la **Tat** actúa como transactivadora de todas las proteínas y la **Rev** como procesadora del ARNm y su transporte selectivo en el citoplasma.

Por lo general los genes reguladores tienen el mismo nombre que la proteína que codifican. El gen se escribe con minúsculas y la proteína con la primera letra en mayúscula. Entre los otros genes estructurales, el **vpr** actúa como acelerador del ciclo de replicación; el **nef** se piensa que puede tener una acción reguladora negativa y desempeñar un papel no conocido de la patogenicidad del virus; el **vif** se asocia a la infección de los viriones extracelulares y no es esencial para la replicación; el **vpr** puede facilitar la salida de los viriones y reduce la formación de sincitios, además de estar relacionado con la muerte de los CD4 y el **tev**, que es activador de los **tat** y **rev**.



En la tabla adjunta se resumen los principales genes del VIH y funciones de las proteínas que lo codifican.

GEN	PROTEÍNA	FUNCIÓN
Env	Gp 160 Gp 120 Gp 41	Precursor Proteína de la envoltura Interacción con receptores y correceptores Fusión de membranas
Gag	P 55 P 24 P 17 P 9 P 6	Precursor Proteína de la nucleocápside Proteína de la matriz Ribonucleoproteínas asociadas al ARN viral
Pol	Transcriptasa inversa Integrasa Proteasa	Retrotarnscripción del genoma viral Actividad RNAsa H Integración de genoma viral retrotranscrito Procesamiento de las proteínas virales que forman la estructura del virión
Tat	Tat	Transactivación
Rev	Rev	Regulación del transporte y procesamiento de ARN
Nef	Nef	Retrotranscripción. Infectividad
Vif	Vif	Infectividad viral
Vpr	Vpr	Transactivador
Vpu	Vpu	Liberación de viriones
Tev	Tev	Activador tat y rev

TABLA 2²

En la forma de provirus, el genoma del VIH está flanqueado por las llamadas secuencias repetitivas largas (LTR) que le permiten la integración en el genoma de la célula huésped. Uno de los principales elementos que intervienen en la regulación de la inducción es el llamado factor nuclear kappa beta (NF-kB) que son una familia de proteínas que regulan la transcripción de varios genes celulares implicados en los procesos de activación y reconocimiento inmune.

Este factor no existe en forma activa en los linfocitos CD4 en reposo y es inducido solo en los procesos de activación inmune.^{2,3}

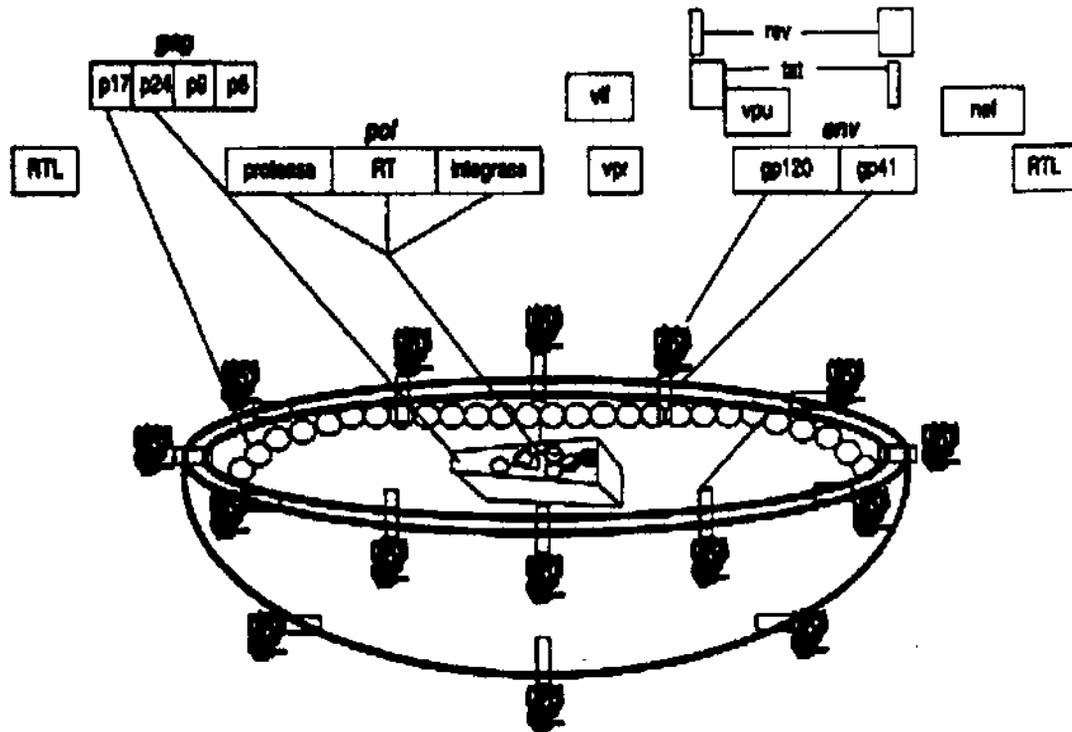
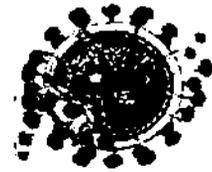


FIGURA 1. Organización del genoma del VIH - 1. En la parte superior se muestran los diferentes marcos de lectura y las proteínas originadas por cada uno de los genes del virus.

Las principales vías de transmisión del VIH son sangre, semen y elementos biológicos en los que se encuentra gran cantidad de linfocitos portadores, en su caso el virus.

Existen dos tipos de células humanas que son blanco principal de la infección VIH, los linfocitos TCD4 y los macrófagos de los tejidos. Como consecuencia de la llegada a las células *diana* se pone en marcha un conjunto de procesos que tienen como finalidad permitir la entrada del virus en la célula y la utilización de los mecanismos bioquímicos de ella para poderse replicar y dar lugar a nuevo virus. El conjunto de los fenómenos que acontecen como ciclo biológico o vital del VIH y los mecanismos íntimos que lo componen presentan una gran complejidad de interacciones entre el virus y el huésped.



Los linfocitos colaboradores afectados, una vez dentro del nuevo huésped receptor, de inmediato se integran a células susceptibles con receptores superficiales (CD4+ similar) citotípicos de linfocitos y otras células, que son a su vez, receptoras específicas del antígeno viral gp 120. Estas células mueren, como resultado de la infección viral, es decir, del efecto citopático, pero no sin antes pasar por el proceso de réplica. Dichos linfocitos por su importante injerencia en los fenómenos de regularización inmunológica, dirigen primero la respuesta inmunitaria contra los antígenos extraños y a las células supresoras, afectando después los dispositivos de defensa celular.^{2,3,4}

El comienzo de la infección con el VIH, se caracteriza precisamente, por una disminución importante de células T CD4+, coincidente con la réplica explosiva del VIH. Una vez contrarrestada la infección, se recuperan un tanto las células T CD4+ aunque siempre alcanzan menor cantidad de la que había en su estado previo. El virus que causa el SIDA (VIH) se asocia con los linfocitos CD4+. La patobiología que conduce a la inmunodeficiencia se refleja en tres formas diferentes. Aquella que en virtud de la constitución en un complejo independiente, da lugar a dos tipos de asociación: uno en que el virus, elemento citocida, se replica para producir grandes cantidades de partículas neoformadas y otro de baja capacidad replicante, con producción escasa de viriones; la última es de carácter dependiente y se presenta como infección latente. El genoma viral depende de la duplicación del DNA celular para, a su vez, duplicarse también, ya que este se encuentra en forma de provirus. Estos tres tipos de relación virus-célula, pueden coexistir, y de hecho ocurren, de modo simultáneo en un mismo individuo.^{3,4}

El provirus es una forma de partícula viral que se asocia de modo íntimo al DNA y se encuentra latente. El virus de la inmunodeficiencia humana, es uno de los que requiere de receptores específicos, llamados CD4 (o similares), presentes en linfocitos CD4+ y células de langerhans localizados a lo largo de la mucosa intestinal, vagina y en otros epitelios.



Ciclo Biológico del VIH

El ciclo biológico del VIH comienza sólo hasta que la partícula infectante (virión) se enfrenta a la célula susceptible, con la que se une mediante una reacción de elevada afinidad entre la glicoproteína exterior de la clámide viral (gp 120) y la proteína CD4 de las células susceptibles. La región de gp 120 participa directamente en la unión con CD4, que se encuentra a concentración elevada en los linfocitos CD4+ colaboradores y a menores concentraciones, en otras células que también pueden ser objetivo del HIV-1. Es una región que consta de tres porciones de la clámide del HIV-1, que parecen doblarse juntas para formar una bolsa exclusiva para los receptores CD4.^{2,3}

Una vez que se lleva acabo la unión de la membrana del virus y la célula se requiere de la intervención de la zona hidrofóbica de la otra glicoproteína (gp 41) de la clámide, fuertemente adherida a la gp 120 por puentes de hidrógeno, misma que expande la membrana del HIV-1; ya que las membranas celular y viral han quedado unidas, el contenido de la cápsula del HIV-1 queda incluido en el citoplasma de la célula por intervención de una proteína, llamada CD26. (La mutación de las tres áreas no contiguas de las terminaciones carboxílicas de gp 120 eliminan la reacción de unión). Es así como se realiza la penetración, que suele ser un fenómeno pasivo por parte del virus y activo por la célula, misma que se sirve de una proteína específica, llamada CD26.^{3,4}

En consecuencia, se liberan las moléculas de RNA del genoma viral y las de la transcriptasa de inversión con lo que se concluye también la etapa de privación de envolturas.

Otro mecanismo por el cual puede el HIV entrar a las células, es disfrazado en una mezcla fenotípica, procedimiento que permite al genoma viral, introducirse en la clámide de otro virus diferente, con lo que adquiere el espectro celular del virus adoptivo, que es por lo común, alguno de los herpes virus (herpes simple).

Libres las enzimas y el genoma, inicia la biosíntesis, para lo cual se necesita la acción de la polimerasa que reproduce el genoma RNA, de ahí el nombre de la polimerasa.^{4,5}



Antes que el genoma viral sea transcrito al respectivo RNA mensajero, para la formación de polisomas y sintetizar las proteínas virus-inducidas, se revierte el código sobre una molécula de DNA neoformada, mediante la llamada transcriptasa de inversión, la cual forma primero, con el concurso de una DNA-polimerasa dependiente del RNA viral, una heterodupla DNA/RNA cuyo ribonucleótido (genoma original de HIV-1) es destruido por una ribonucleasa H. El DNA-polimerasa / RNA-dependiente más la ribonucleasa H, son lo que se conoce como transcriptasa de inversión, de tal manera que al principio, sólo queda la molécula de DNA, por acción de la misma DNA-polimerasa que participa para formar la primera cadena. Por lo que se constituye en molde para la réplica de su propia contraparte con la misma secuencia del RNA.^{4,5}

La información genética del HIV, ahora contenida en el DNA, virus-inducido o provirus, similar a la estructura del DNA celular, pasa al núcleo de la célula donde, con la integrasa, otra enzima contenida en la cápsula viral, es insertado entre dos partes del filamento de cromatina celular. Este paso es esencial para construir el molde del nuevo DNA, que ya insertado en la cromatina nuclear de la célula huésped, con carácter invariable, sirve de molde para moléculas de RNA mensajero (RNAm) que a su tiempo se incorporan a ribosomas celulares. Del sitio en que se localice la inserción del DNA, dependerá la forma de asociación virus célula que se integre (independiente o dependiente). A partir de esta integración de los genomas viral y celular, el provirus se replicará con simultaneidad a la división de DNA de la célula huésped, cada vez que ésta entre en mitosis. De cualquier manera, cuando la integración genómica del HIV-1 y células CD4+ se ha realizado, la actividad biológica del provirus cesa en muchas células por tiempo imprescindible. Éste es el complejo virus célula dependiente; es la fase latente. Esta forma de infección, difiere del verdadero estado latente proviral, en el cual el propio genoma viral completo se encuentra en la célula sin expresarse.^{3,4,5}

En el caso del VIH, ni el RNA viral ni sus proteínas se expresan, pero ciertos cambios fisiológicos en la célula, conducen a la réplica y diseminación viral con muerte celular. Un gran número producido de moléculas de RNA que contiene toda la información genética del virus, parte de las cuales son ensambladas en cápsulas protéicas para formar una nueva generación de partículas infectantes, da lugar a que otras con función ribosomal, sean insertadas en el sistema ribosómico celular para producir las proteínas virus-inducidas con función estructural o enzimática para los nuevos viriones, y otras más, codifican



microsomias para producción de proteínas reguladores, capaces de conducir la maquinaria metabólica celular a la producción de nuevas partículas infectantes en números cada vez mayores, hasta conseguir la destrucción celular.^{3,4,5}

Los viriones neoformados de VIH-1, se ensamblan a partir de dos moléculas de proteínas precursoras. Una de ellas es precursora de las proteínas de la nucleocápsula; la otra, es de las que, unidas a proteínas estructurales, se dividen para formar lo que serán las enzimas que participan en la biosíntesis del DNA dependiente de RNA viral: la DNA-polimerasa y la ribonucleasa H, conocidas como transcriptasa de inversión.

Estas dos moléculas precursoras son transportadas a la periferia celular, donde mitades de ácidos grasos, situadas en el extremo de cada una de las precursoras mencionadas, sirven para unir las al interior de la membrana celular. Conforme los otros precursores se acumulan, se unen entre sí para formar una estructura cilíndrica de extremos convexos, en la que se incluyen dos copias completas del genoma de RNA del VIH-1.^{3,4}

Una de las enzimas (una proteasa) contenida en la molécula precursora más grande, se separa a sí misma al igual que hace con las otras enzimas (DNA-polimerasa, ribonucleasa e integrasa) de la gran cadena de proteína precursora, y finalmente divide también a la molécula precursora estructural en cuatro proteínas estructurales independientes, de las cuales tres (p 7, p 9 y p 24) forman el nucleoide en forma de cilindro de extremos redondeados, antes mencionado, que cubre al RNA genómico y sus enzimas, mientras el cuarto segmento, continúa adherido a la membrana celular. Algunas de las proteínas neoformadas modifican la membrana celular en los sitios en los que se ha de producir la eclosión de las partículas virales neoformadas.^{3,4}

El virión completo se encierra a sí mismo en una envoltura, la clámide, procedente de la membrana citoplásmica, que se integra la nucleocápsula. Después de lo cual, hace protrusión hacia afuera de la membrana citoplásmica. Dicha clámide lleva un elemento estructural adicional del VIH-1- las glucoproteínas gp 41 y gp 120, mismas que surgen sobre la membrana hasta la superficie de la célula. Las llamadas gp 41 y gp 120 se sintetizan a partir de un precursor único (gp 160), que dividido forman las glucoproteínas definitivas que confieren al VIH-1 la propiedad de adherirse a la superficie de las células susceptibles e iniciar con ello, cada vez, un nuevo ciclo de réplica.^{5,7}



El ciclo vital del VIH

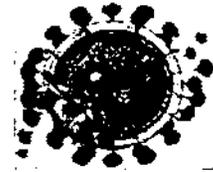
Para que el virus del VIH penetre en la célula debe producirse la fusión de las membranas viral y celular. La entrada del VIH-1 en la célula se produce por la interacción del virus con al menos dos tipos de receptores. El receptor específico y común a todos los VIH-1 es una proteína que se encuentra en la superficie de las células *diana* y que se denomina molécula CD4 (no confundir con linfocitos CD4).^{2,4}

Las principales células que poseen este receptor son los linfocitos y los monocitos / macrófagos (CD4+), aunque *in vitro*. Otros tipos celulares pueden ser identificados por el VIH y no todos ellos poseen la molécula del CD4 (CD4-). Los linfocitos CD8 no expresan en condiciones normales el receptor CD4 pero se sabe que tras la infección de determinados virus como el HHV-6 si puede expresarlo.

La presencia en la superficie viral de material celular como los antígenos HLA o la Beta 2-microglobulina permite que al ponerse en contacto, virus y células del epitelio rectal e incluso al receptor Gal-C de algunas células del sistema nervioso, presenten más receptores.

La existencia en el virión de algunas enzimas como la ciclofilina se piensa que permite la interacción con las proteínas de la cápside facilitando la denudación viral.

Una vez que tiene lugar la interacción entre la gp 120 y los receptores, se produce la fusión entre las membranas de la célula y del virus teniendo como responsable a la gp 41, quien insertará en la membrana celular permitiendo la internalización de la nucleocápside del virus y la desencapsidación de su genoma.



Tras la entrada se inicia la reproducción del virus (replicación) por transcripción inversa o retrotranscripción (2) mediada por la transcriptasa inversa del virión y que conduce a la formación de la primera cadena del ADN a partir del ARn viral. La segunda cadena del ADN requiere la acción de la ribonucleasa H. La doble cadena así generada, es integrada(3)) por medio de la Integrasa viral en el ADN de la célula, aunque parte del ADN formado puede persistir en el citoplasma de la célula sin integrarse dentro del genoma celular. La integración del ADN proviral en el genoma celular puede depender en el estado de activación de la célula, pero parece ser inespecífica.²

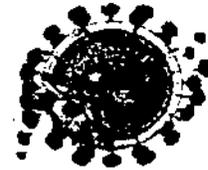
Se cree que en los linfocitos, este ADN no integrado, podría producirse por la entrada de múltiples viriones en la célula; se sabe que la copia del material genético del VIH como ADN, se almacena en el citoplasma de la célula (latencia preintegración) y se va integrando en los cromosomas de la célula a medida que pase el tiempo y como consecuencia de estímulos sobre la célula (este fenómeno podría explicar en parte las infecciones silentes y ser base para la preparación de vacunas con ADN desnudo).

A pesar de que el VIH puede infectar linfocitos quiescentes, en éstos la transcriptasa inversa y la integrasa no parecen ser eficientes y se produce un estadio de preintegración con ADN proviral, fundamentalmente extracromosómico o complejos ARN/ADN con transcripción inversa incompleta, que guardan la capacidad de integrarse con posterioridad. El proceso de retrotranscripción y de integración no solo depende de los factores del VIH ya que en ellos juega un papel importante la propia activación celular.

Una vez integrado en el material genético de la célula, el provirus puede permanecer latente o empezar a multiplicarse de una forma controlada o de una forma masiva, en cuyo caso ocasiona efectos citopáticos sobre la célula, mientras que en la latencia, producida tras la integración del provirus, no se producen alteraciones patológicas.

La activación celular por diferentes factores, como antígenos, mitógenos, citoquinas o virus heterólogos pueden activarla y producir una cascada de acontecimientos que llevan a la expresión del genoma viral; estos factores, entre los que el Nf-bK es el principal factor regulador de la transcripción del VIH a partir de su estado de latencia, llevan a una nueva transcripción (4) que supone la síntesis de ARN del virus a partir del ADN proviral integrado en la célula.

Características moleculares del virus VIH



Este ARN se sintetiza como un único transcrito que debe volver al citoplasma de la célula para procesarse en transcritos de diferente tamaño y en los que son fundamentales las proteínas Tat y Rev.²

Se piensa que el resto de acontecimientos requieren señales específicas sin las que sólo se forman partículas virales maduras sin ARN. El ensamblaje (6) del core ocurre en la membrana celular y parece comenzar con la asociación de la proteína p17 de la matriz con el dominio citoplasmático de la proteína gp41. También parece que el clivaje de las proteínas del core se produce a partir de poliproteínas precursoras, durante la formación de la partícula y después de ella. La síntesis de las proteínas de la envoltura viral se produce en el retículo endoplásmico de la célula huésped, a partir de la gp 160; ésta es clivada en el aparato de Golgi por una proteasa para producir gp 120 y gp 41 antes de transportarlas a la superficie de la célula.

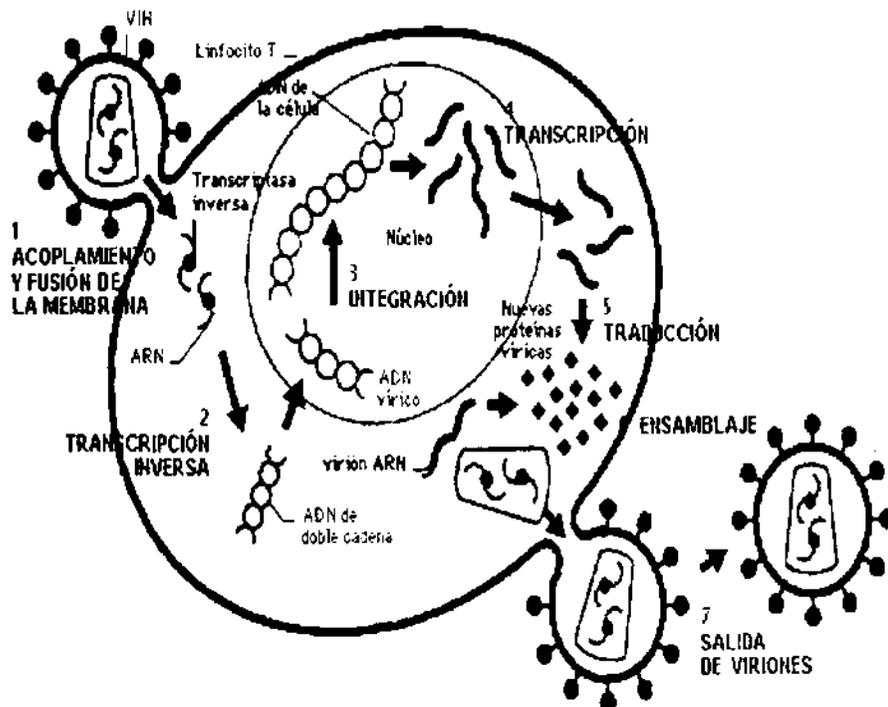


FIGURA 2². Replicación del VIH

Características moleculares del virus VIH



El virión maduro está compuesto por una membrana, que incluye las proteínas virales gp 120 y gp 41, además de varias proteínas celulares, un core que contiene ARN viral, transcriptasa inversa e integrasa. Otras proteínas no son empaquetadas en los viriones y sólo actúan en los pasos que preceden a la liberación de los virus.

Se piensa que la vida libre de los viriones es muy corta, aproximadamente de 0,3 a 0.5 días (8-12 horas), y que en 2,6 días se realiza un ciclo viral completo con salida desde la célula infectada, pasando por infección productiva, vida libre, infección de otro linfocito, replicación intracelular y salida de nuevos viriones.

De este modo se producen unos 140 ciclos de replicación al año y en situaciones de equilibrio se estima que se producen y se destruyen en orden de 10 viriones, renovándose cada día, alrededor del 30% de las partículas circulantes. Del mismo modo se estima en un orden de 10^9 los linfocitos CD4+ que se producen y destruyen diariamente. Probablemente a partir de la estimulación y proliferación de clones periféricos, lo que puede suponer un índice de recambio de 10 a 100 veces superior al fisiológico; en estas condiciones de equilibrio se piensa que cada 15 días se renueva la totalidad de los CD 4+ circulantes, siendo la vida media estimada de un linfocito infectado por el VIH de 1,2 a 2,2 días.^{2,3}

También se ha calculado que cada célula infectada produce del orden de 10^4 a 10^5 partículas virales muchas de las cuales son defectivas, estimándose que el 1% del total de los linfocitos del organismo se infecta de nuevo cada día. Con esta dinámica poblacional y estimando la tasa de mutaciones del orden de 10^4 a 10^5 sustituciones por nucleótido copiado, se regeneran rápidamente distribuciones mutantes que podrían alcanzar los 10^{12} partículas virales circulantes en un individuo infectado.^{2,3}

Por lo tanto, en el organismo humano infectado, el VIH se encuentra como una mezcla de variantes genéticas estrechamente relacionadas que se denominan cuasiespecies.

En el modelo de cuasiespecies se acepta que la secuencia de nucleótidos del virus es indeterminada al nivel individual y sólo se define de un modo estadístico.



En algunos casos un genoma con una secuencia *definida*, puede ser el mayoritario (secuencia *maestra*), pero no siempre ocurre así ni tiene porque coincidir con la secuencia *consenso* de la población viral.

Las familias del virus desarrollan una serie de complejos mecanismos, llamados de escape, para no ser eliminados por la repuesta defensiva del organismo ante su presencia.^{2,3} En el caso de los retrovirus estos mecanismos corresponden básicamente al desarrollo de variabilidad genética, debida a la alta tasa de error de la transcriptasa inversa en la retrotranscripción y a la posibilidad de permanecer en estado latente en determinados reservorios.

La transcriptasa inversa del VIH tiene una tasa de error similar a la de otros virus ARN y se estima del orden de 10^3 a 10^5 sustituciones por nucleótido copiado (de cada 1.000 a 100.000 nucleótidos copiados uno es erróneo). Como consecuencia de esta variabilidad se produce gran cantidad de virus defectivos, pero también se da lugar a una alta diversidad de las proteínas virales que, teóricamente, puede permitirles escapar a los controles inmunitarios específicos y a la presión de los antirretrovirales.^{2,3}

Considerado globalmente el organismo humano infectado por el VIH, no se puede hablar de que exista una verdadera fase de latencia, sin embargo, está es posible en células individuales y a pesar de que probablemente no contribuyan a una producción de virus superior al 1%, son de gran transcendencia porque pueden explicar la recidiva tras el fallo del tratamiento antirretroviral.

En sangre periférica solo están infectados entre el 1 y el 10% de los linfocitos T CD4 circulantes, sin embargo, en los órganos linfoides (especialmente los ganglios linfáticos), se piensa que pueden estar infectados más del 40% de los linfocitos CD4 presentes y que sólo una pequeña proporción de ellos, alrededor del 1%, replican activamente el genoma proviral en un orden de 10^{10} viriones productivos al día, lo que representa a la población celular destruida - alrededor de 10^6 - Los virus producidos infectarían a un número parecido de células (alrededor del 1% del total) y esta población infectada de nuevo sería, mayoritariamente, de linfocitos activados para regenerar a los destruidos y en ellos, el VIH experimentaría, probablemente, una replicación rápida sin fase de latencia.^{2,3,5}



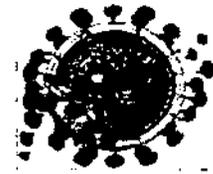
Se sabe por otro lado, que el porcentaje de macrófagos infectados es muy pequeño, del orden de 1 por cada 15.000-100.000 en los órganos linfoides; a pesar de que la infección de células de las mucosas, células de Langerhans o de los macrófagos de la microglia cerebral suponen, probablemente, un reservorio muy pequeño del VIH, pueden jugar un papel trascendental en la transmisión sexual del virus y en la afectación del sistema nervioso central.^{2,3,5,7}

Resistencia a la infección del VIH

Durante mucho tiempo se ha observado que algunos sujetos que estaban expuestos al VIH no se infectaban con el virus, a pesar de haber estado repetidamente en situaciones de riesgo; estos sujetos, usualmente denominados Expuestos No Infectados (ENI), despertaron la atención de diferentes investigadores que especularon sobre la posibilidad de que existiese una resistencia natural a la infección por el VIH, posiblemente de naturaleza genética. Estas ideas iniciales se han reforzado con el conocimiento más reciente de los mecanismos patogénicos de la infección, ya que el rápido recambio del VIH, al menos en el plasma, podría sugerir que existen mecanismos naturales que son eficaces eliminando al virus, aunque su naturaleza completa se desconoce en la actualidad.

Se ha comprobado que algunos PNI poseían linfocitos que, "in vitro", eran muy resistentes a la infección por el virus y que dicha resistencia podría estar asociada a la presencia de algunas mutaciones en las glucoproteínas de su membrana, las que podrían actuar como "factores" que facilitan la entrada del virus en la célula; estas proteínas se han denominado, con respecto al VIH, correceptores.^{9,11}

Por otro lado, se tiene el conocimiento que ciertas sustancias de naturaleza protéica soluble, son capaces de mediar e interactuar entre diferentes células. El concepto primario de mediación en los procesos inflamatorios, ha correspondido históricamente con diferentes nombres de estas sustancias; dado que el primer conocimiento que de ellas se obtuvo obedece, fundamentalmente, a la realización de ensayos funcionales, las primeras denominaciones que se les dio hacían referencia a las células que las producían; de este modo se hablaba, entre otras, de linfocinas, monocinas o interleucinas, según fuesen producidas por los linfocitos, los monocitos-macrófagos o los leucocitos polimorfonucleares.



Sin embargo, el conocimiento posterior permitió saber que las sustancias eran producidas por muy diferentes tipos celulares y se le aplicó el nombre más amplio de citoquinas, para designar unos mediadores proteicos producidos por células que regulan la actividad de ellas mismas y de otras células. La aplicación de la genética molecular mediante la tecnología de ADN recombinante ha permitido aislar diferentes genes y obtener el producto que codifican de forma pura. Para algunos autores las citoquinas serían una especie de hormonas celulares.^{10,11}

Durante la activación celular que sigue, como respuesta a un estímulo, se producen y se unen de forma transitoria a receptores específicos de membrana. Funcionalmente, presentan retroregulaciones positivas y negativas entre sí y por lo general, no actúan solas sino con otras producidas por la misma célula, pudiendo inducir, potenciar o inhibir la producción de otras citoquinas y/o modular negativa o positivamente los efectos de dichas citoquinas.

Por otro lado, al actuar sobre diferentes tipos celulares, ejercen múltiples efectos (pleiotrópicos) e igualmente comparten muchos de ellos (redundantes). Dadas estas características, se debe tener presente que algunos de los efectos que se atribuyen a ciertas citoquinas, en realidad se podrían deber a otras con las que interactúan y éstas, incluso ser desconocidas. Las citoquinas juegan un papel importante en la respuesta inmunitaria e inflamatoria en las que se las puede considerar como un mensajero que llena el vacío de comunicación entre los linfocitos y otras células del sistema inmunológico.^{9,10,11}

El término de quimiocina hace referencia a un tipo de citoquinas de bajo peso molecular (8-11 kD), con función quimiotáctica (de ahí su nombre) y que tienen un papel crítico como iniciadoras y promotores de las reacciones inflamatorias. Son producidas por una gran variedad de células en respuesta a estímulos exógenos o endógenos y se caracterizan por tener un efecto quimiotáctico sobre distintos leucocitos u otras células en las que determinan un incremento de su adhesión a las células endoteliales y/o su activación.

Se sabe que durante su ciclo vital, el VIH necesita penetrar en la célula que infecta para poder replicarse en su interior y producir nuevos viriones. El VIH puede penetrar en las células a través del acoplamiento de los componentes de las membranas de célula y virus. Para ello es necesario la presencia en la célula de receptores de alta afinidad, como la



molécula CD4, con la que se produce la fijación de la proteína gp 120 de la envoltura del VIH. También se ha comprobado, "in vitro", que diferentes tipos celulares pueden ser infectados por el VIH y no todos ellos poseen la molécula CD4 (CD4-); el VIH no infecta a células de otros animales que si expresan la molécula CD4 (no pudieron ser infectadas con el VIH, células de ratón que también expresan CD4). Esto ha conducido, durante la última década, a una intensa investigación para encontrar correceptores del VIH.

Fruto de dicha investigación, es la identificación de que al menos son necesarios 2 receptores de transporte, localizados en la superficie celular de las células inmunológicas que comúnmente ataca el VIH. Los monocitos y macrófagos manifiestan un receptor diferente al de los linfocitos CD4+. Identificar ambos receptores, y varias de las quimiocinas que los estimulan, ha permitido establecer un campo de investigación clínica sobre las éstas.^{4,11}

Desde hace más de 10 años se ha especulado sobre la presencia de un "factor" celular antiviral (Levy) que inhibe la replicación del VIH dentro de las células infectadas y que será producido por los linfocitos CD8, lo cual podría explicar la evolución lenta, o la falta de progresión, que algunos sujetos infectados presentan. Si bien dicho factor no se ha aislado de momento, ha sido probablemente la base teórica de las investigaciones, lo que ha conducido a la caracterización, a finales de 1995, de diferentes quimiocinas (RANTES, MIP-1 alfa -MIP-1a- y MIP-1 beta -MIP-1b-) que producidas por los linfocitos CD8 son capaces de inhibir la replicación "in vitro" de algunas cepas del VIH-1.

La identificación de personas que estando expuestas persistentemente al VIH y que no se infectan, condujo al estudio de las características genéticas que estas personas pudieran presentar. Primeramente se pensó que los genes del sistema HLA - antígenos leucocitarios humanos (human leukocyte antigens) -, uno de los mayores sistemas de histocompatibilidad, compuesto por una serie de proteínas de membrana que se hallan codificadas por genes situados en el brazo corto del cromosoma 6, podrían actuar como protectores de la infección VIH.



Se determinó que algunas distribuciones de alelos de clase I y II del sistema HLA, se presentaban en ENI, aunque posteriormente a estos hallazgos, se han relacionado con la actividad de las células T citotóxicas y se pensó que otros factores genéticos, no HLA, también podrían influir en la susceptibilidad a la infección por el VIH y el curso de la misma.

Entre 1996 y 1997 algunos estudios aventuraron el papel de protección, que frente a la infección del VIH, tenía un defecto cromosómico: la homocigotidad para una pérdida de 32 pares de bases en un gen receptor de quimiocinas: el CCR5, o anteriormente CC-CCR5, (CCR5 32).

Se habían estudiado más de 60 personas homocigotas para la pérdida de CCR5 32 que no presentaban infección por el VIH, a pesar la repetida exposición; sin embargo, ya se han descrito algunos casos de gente que presenta esta detección de CCR5 y se han infectado con el virus.

Aparentemente, a pesar de que se ha sugerido que la infección inicial se produciría por cepas que utilizan este correceptor y no otros, sería lógico pensar que la existencia de otros correceptores permitiría la infección en estos sujetos con cepas CXCR4 trópicas, por lo que el papel de la pérdida CCR5 en la protección no está perfectamente dilucidado. Igualmente se piensa que la presencia de una copia de la pérdida CCR5 también influye en el curso de la enfermedad y su evolución a SIDA, como ocurre en las personas heterocigotas para el CCR5.^{4,10}

Actualmente, se sabe que los receptores de las quimiocinas (que son proteínas de la superficie de la célula que ligan las quimiocinas) pueden desempeñar un papel importante en la susceptibilidad al VIH y en la progresión de la enfermedad.

Existen diferentes clasificaciones de las quimiocinas que pueden variar en función de los continuos conocimientos que se van adquiriendo; según el número y la situación de la cisteína, las quimiocinas se han clasificado en tres grupos: CCCP y CXC (la C hace referencia al residuo cistino; por ejemplo las CXC tendrían un solo aminoácido -X- entre dos residuos). Otras clasificaciones, basándose en criterios estructurales y en la localización cromosómica las ha dividido en dos subfamilias, alfa (cromosoma 4) y beta (cromosoma 17).



Del mismo modo sus receptores se han agrupado en familias tomando como base al ligando de la quimiocina que unen: CCP, CXC, o ambos. Según se han ido identificando, se les ha denominado con la letra R de receptor y un número (así CXCR- 1, CXCR- 2, etc.). Si bien se diferencian con nombres, muchas veces, distintos, según las clasificaciones que se utilicen.^{9,10,11}

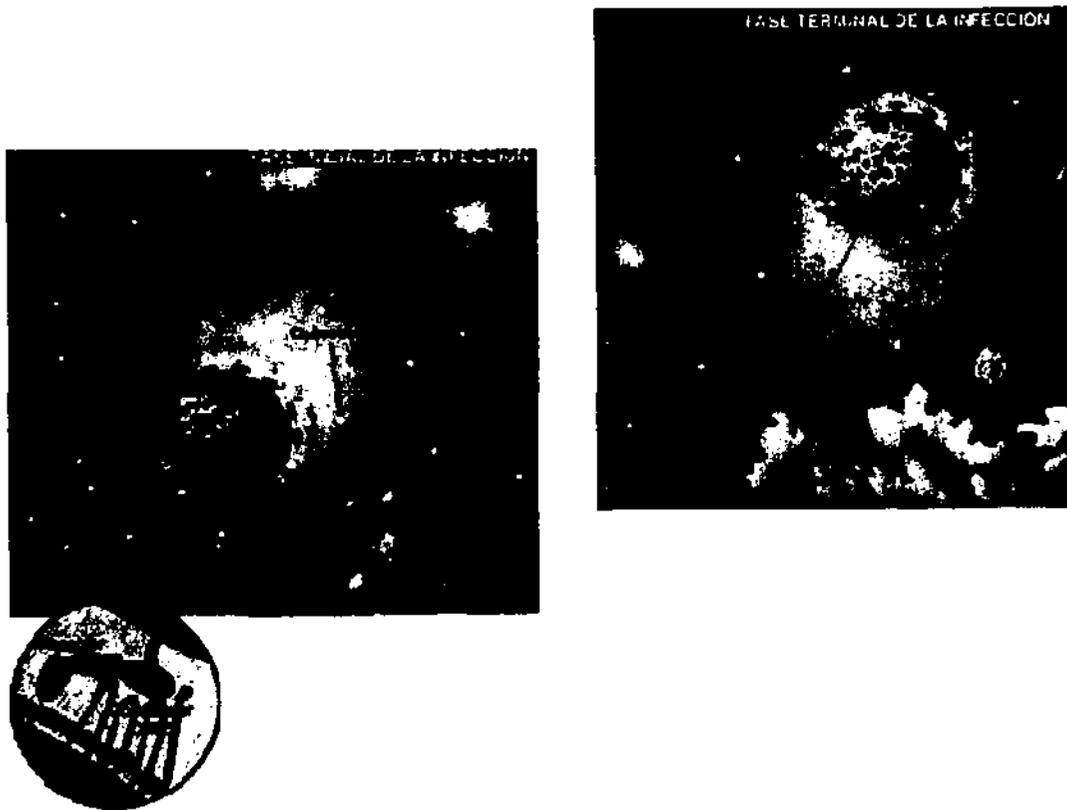


FIGURA 3¹¹. Las dos fases de la infección. En los estadios tempranos de la infección (arriba a la izquierda) el VIH - esferas verdes - se unen a los linfocitos CD4 por medio de dos receptores: el CD4 y el CCR5. Las quimiocinas, una sustancia producida por los linfocitos CD8 combaten la acción viral anclándose en el CCR5. En la fase avanzada de la enfermedad (arriba a la derecha), el VIH ha mutado - esferas naranjas - y se filtra también uniéndose al coreceptor fusina.

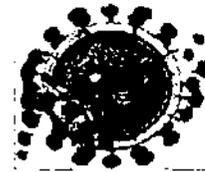


FIGURA 4¹¹. Para inyectar su material genético en el interior del linfocito, el virus tiene que acoplarse a un mismo tiempo al receptor CD4 y al coreceptor CCR5. Las persona que nacen con una mutación genética que les imposibilita la síntesis de CCR5 se muestra inmune al VIH.

Algunos receptores fijan diferentes quimiocinas, mientras que otros son más selectivos; el hecho de que una quimiocina pueda acoplarse a más de un receptor no significa que los receptores sean redundantes. La quimiocina puede serlo, puesto que los procesos biológicos iniciados después del acoplamiento pueden ser muy diferentes. Estos ampliamente distribuidos en las células hematopoyéticas. También existen receptores de los que no conocen su ligando (receptores huérfanos), como los identificados recientemente en el gen TER 1.



Un rasgo característico de todos los receptores de las quimiocinas es tener una estructura como de una serpiente que se ha llamado de "*siete dominios transmembrana*". Las partes extracelulares están implicadas en la unión de las quimiocinas, mientras que las partes intracelulares, están implicadas en el envío de señales a la célula, de las que pueden resultar alteraciones de las funciones celulares, tales como activación, movimiento o migración, usualmente, a lo largo de un gradiente de concentraciones de quimiocinas.

Se sabe que algunos receptores de las quimiocinas juegan un papel en la patogénesis o susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. El VIH-1 o el VIH-2 utilizan algunos receptores CCP o CXC como cofactores de entrada en las células.

El DARC (antígeno de Duffy de los eritrocitos) es un cofactor para la entrada de *Plasmodium vivax* en los eritrocitos y como en el caso del CCR5 con delección 32 y en el VIH, la resistencia a *Plasmodium vivax* en la malaria, está asociada con una falta de expresión DARC.

Diferentes virus de la familia Herpes (virus de Epstein- Barr, Cytomegalovirus, virus del Herpes) contienen receptores funcionales homólogos de quimiocinas humanas, lo que hace pensar que algunos virus pueden usar estos receptores para subvertir los efectos de las quimiocinas del huésped.

Dentro del papel que en la infección del VIH desempeñan las quimiocinas y sus receptores, es importante recordar los conceptos de tropismo o selección de células que tiene el virus. En este sentido, cuando el VIH muestra preferencia por infectar las células del sistema monocito-macrófago se le clasifica como macrófago trópico o VIH M-trópico. Por el contrario, cuando el VIH tiene preferencia por los linfocitos T CD4 se le llama linfotrópico o VIH T-trópico.

El virus M-trópico se reproduce dentro de las células mononucleares de sangre periférico (linfocitos sanguíneos), pero no induce la formación de sincitios (agrupación de células cuyas membranas se han unido). Se considera que las cepas del VIH que no inducen la formación de sincitios (NIS) son menos virulentas que las que si son capaces de inducir la formación de sincitio (IS). Las cepas del VIH IS se han asociado con la progresión rápida de la enfermedad y un pronóstico desfavorable.



Las cepas T-trópicas son capaces de inducir la formación de sincitios. Las cepas del VIH M y T-trópicas coexisten dentro del organismo. No se conoce que exista un periodo de la enfermedad durante el cual todo el virus en una persona es completamente M-trópico o T-trópico, aunque se piensa que la infección inicial por el virus se establece por la cepa M-trópica y el cambio a T-trópico ocurre después. Se cree que la cepa M-trópica está adaptada para infectar las membranas mucosas, lo que explicaría porque algunas personas que carecen de receptores para los virus M-trópicos, no resultan infectadas a pesar de haber sido expuestas repetidamente al virus. Además, es posible que la falta de estos receptores también proteja a las personas de la infección transmitida por jeringuillas infectadas o productos sanguíneos contaminados.^{2,9}

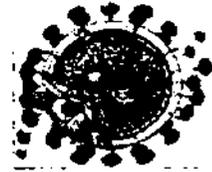
Algunos autores piensan que el cambio viral de NIS a IS refleja un cambio de tropismo y que el VIH, que en primer lugar ha seleccionado macrófagos para la infección, cambia a la selección de linfocitos T. Se sabe que el correceptor para el virus T-trópico es un receptor de las quimiocinas que se ha denominado fusina (LESTR o CXCR4).

Por otro lado, el VIH M-trópico puede emplear los receptores CCR5 y CCR3 para entrar en la célula, y que una parte específica de la gp 120 del VIH, interactúa con estos receptores después de que la gp 120 se ha acoplado con la molécula CD4, a través del desarrollo de la cadena V3 que muestra el componente por la que se une al CCR5.^{2,4,6}

El receptor CCR5, en respuesta a las quimiocinas CC RANTES, MIP- 1a y MIP- 1b, traduce señales que hacen que el monocito muestre una quimiotaxis hacia las áreas de inflamación. Estas quimiocinas inhiben la infección de las cepas M-trópicas primarias del VIH- 1 y células facilitadoras T CD4+ (dado que el CCR5 media la entrada de estas cepas en las células después de la unión de la gp 120 a la molécula CD4).

Sin embargo, las cepas T-trópicas que usan otro receptor CXC, no son inhibidas por las quimiocinas CC. De un modo similar el VIH T-trópico, después de acoplarse al CD4, desenreda un componente de la gp 120 que se une al receptor CXC4. El ligando natural del receptor CXCR4 o fusina es un factor quimiotáctico aislado a partir de células del estroma, designado por este hecho como SDF1 (stromal derived factor 1). El SDF1 es un potente inhibidor de las cepas T-trópicas porque se une a un receptor natural CXCR4 y bloquea la entrada del VIH en los linfocitos.^{2,4,6}

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



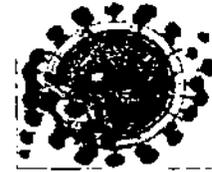
Otros receptores - tales como CCR1, CCR2a, CCR3 y CCR4 - no permiten la fusión; en el mismo sentido, diferentes quimiocinas - como RANTES, MIP- 1 a y MIP- 1 b - son capaces de bloquearla. Se piensa que los CCR3 y CCR2b son cofactores de entrada del VIH con tropismo dual. Estudios en células derivadas de la microglia cerebral han demostrado que CCR3 y CCR3 facilitan la entrada del VIH en estas células.⁹

En resumen, el tropismo de las cepas del VIH parece que está determinado, en parte, por el uso de los receptores de las quimiocinas. Aunque las células T y los monocitos expresan CXCR4 y CCR5 en sangre periférica, las cepas del VIH que utilizan CXCR4 tienden a infectar predominantemente a los linfocitos T, mientras que las cepas que utilizan CCR5 infectan a linfocitos T y monocitos-macrófagos. Este tropismo se correlaciona con la habilidad del virus para inducir sincitios en líneas de células T.

Los virus IS (a menudo presentes en el curso tardío de la infección) tienden a ser CXCR4 trópicos, mientras que los virus NIS (que parecen ser los virus que se transmiten "in vivo") tienden al tropismo CCR5. Sin embargo, algunos virus IS primarios pueden usar CXCR4 o CCR5 y en algunos casos, pueden usar ambos correceptores, así como CCR2b o CCR3.

El mecanismo exacto por el cual el VIH interactúa con los CXCR4 o CCR5, y la forma en que esta interrelación, junto con la unión CD4, permite al virus entrar en la célula, no se conoce de un modo claro. Parece involucrar interacciones entre el asa V3 y otras partes de la proteína de envoltura gp 120 con dominios extracelulares de CCR5 o CCR2b, lo que puede implicar interacciones en múltiples pasos entre la molécula CD4, el receptor de la quimiocina y otros componentes de la superficie de la célula.^{4,5,9}

Las quimiocinas pueden inhibir la entrada del VIH por competencia, insensibilización, secuestro o internalización con el receptor, a través de la alteración de la afinidad del receptor o inhibiendo pasos post-unión, como la fosforilización o a través de mecanismos de acoplamiento.



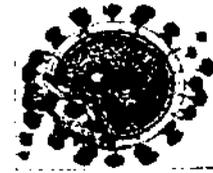
Siendo CCR5 y CCR3 cofactores para la entrada de los virus M-trópicos y no inductores de sincitio (que serían los que preponderantemente infectarían "in vivo"), se explica parcialmente por qué la ausencia de CCR5 confiere protección frente a la infección por el VIH-1. Esta ausencia se encuentra en aproximadamente el 1% de la población caucásica de descendencia europea, debido a una delección de 32 pares de bases. Un 15 o 20% de esta misma población sería heterocigótica, lo que podría conferir una protección parcial o una progresión más lenta hacia la enfermedad, siendo susceptibles a la infección pero menos que la población general.

Estos conocimientos dejan posiblemente abiertas las puertas para poder diseñar y ensayar fármacos que ataquen los procesos específicos de acoplamiento viral. Se piensa que el conocimiento más profundo del proceso, permitiría poder alterar la estructura del CCR5 para bloquear la penetración del VIH y que la célula pueda seguir reaccionando a las quimiocinas que lo utilicen, con lo que podría resultar posible diseñar un compuesto que bloquee el correceptor del VIH sin ocasionar una señal biológica no deseada, como puede ocurrir con una quimiocina natural. La estrategia podría consistir en bloquear todos los correceptores potenciales del VIH, con lo que el virus no infectaría nuevas células, y dejar que el sistema inmunológico elimine la población celular previamente infectada.^{4,6,9}

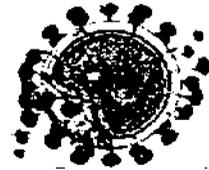
En los sujetos con enfermedad avanzada, se podría seguir un proceso en tres fases:

- ❖ Reducción de la replicación viral a niveles indetectables, mediante el tratamiento antirretroviral de combinación;
- ❖ empleo de quimiocinas para bloquear los receptores del VIH y potenciar al sistema inmunológico;
- ❖ finalmente, el uso de vacunas terapéuticas que permitiesen una respuesta orgánica amplia, ocasionando la eliminación de los virus restantes.

Características moleculares del virus VIH



Sin embargo, no se debe perder de vista que la función primaria de las quimiocinas es la atracción de monocitos hacia el lugar de la infección, por lo que podrían estimular la infección de otras células. Los datos actuales sugieren que la activación linfocitaria es a la vez un mecanismo facilitador de la infección y de la replicación del VIH, así como un mecanismo de protección, mediante la inducción de la síntesis de factores protectores.



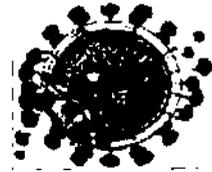
CONCLUSIONES

A partir de la segunda mitad del siglo XX, se han hecho grandes avances en el conocimiento de los retrovirus, descubriendo la existencia e integración del DNA infeccioso de los estos. Es a partir de ello que se inicia la búsqueda del retrovirus humano mediante el desarrollo de técnicas de biología molecular, sin las cuales no se hubiese avanzado tanto en el conocimiento del VIH y otras infecciones virales.

La idea original de que el SIDA es causado por un retrovirus surge de los primeros estudios de HTVL-I y el HTVL-2, a partir de las pruebas epidemiológicas que indican un agente transmisible como causa de la enfermedad. En un principio se le denomina como LAV o HTLV-III; posteriormente recibe, por acuerdo general, la denominación de VIH-I. La detección serológica de VIH-I en pacientes con SIDA y la actividad citopática de los VIH-I, biológica y molecularmente clonados "*in vitro*", son argumentos convincentes que respaldan el concepto del primer cultivo de HTLV-III que lo relaciona como agente causal de la enfermedad. Es así como en 1986, se le da el nombre que le caracteriza en la actualidad: Síndrome de Inmunodeficiencia Humana Adquirida (SIDA).

Existen elementos (genes) dentro del proceso bioquímico de infección del VIH, indispensables para codificar las proteínas respectivas, correspondientes a los antígenos internos, comunes a todos los retrovirus y son los que se denominan **gag** (de grupo), **pol** (polimerasa) y **env** (envoltura). De los genes estructurales, el gen **gag** codifica las proteínas del **core**; el gen **pol** codifica, fundamentalmente, las enzimas como la transcriptasa inversa y la proteasa y el gen **env** codifica las proteínas de la envoltura vírica.

Entre las funciones principales del **gag** se encuentra la de constituir la mayor parte de la estructura del virión participando en la síntesis de ADN y su integración, además de contribuir al ensamblaje de las partículas víricas y su salida de la célula; el **pol** participa en la síntesis de ADN y su integración en el genoma celular, mientras que el **env** participa en la asociación y entrada del virus en la célula, por lo que se le considera como el antígeno de entrada.

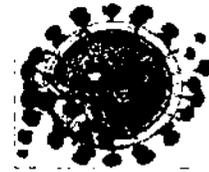


Ahora bien, entre las proteínas reguladoras más importantes tenemos las Tat y Rev que son esenciales para la replicación del virus; la Tat actúa como transactivadora de todas las proteínas y la Rev como procesadora del ARNm y su transporte selectivo en el citoplasma.

Existen dos tipos de células humanas que son blanco principal de la infección VIH, los linfocitos TCD4 y los macrófagos de los tejidos. Como consecuencia de la llegada a las células *diana* se pone en marcha un conjunto de procesos que tienen como finalidad permitir la entrada del virus en la célula y la utilización de los mecanismos bioquímicos de ella para poderse replicar y dar lugar a nuevo virus. El conjunto de los fenómenos que acontecen como ciclo biológico o vital del VIH y los mecanismos íntimos que lo componen presentan una gran complejidad de interacciones entre el virus y el huésped.

Abreviando, podemos decir que el VIH tiene unos 140 ciclos de replicación al año y en situaciones de equilibrio se estima que se producen y se destruyen en orden de 10 viriones, renovándose cada día, alrededor del 30% de las partículas circulantes. Del mismo modo se estima en un orden de 10^9 los linfocitos CD4+ que se producen y destruyen diariamente; en estas condiciones de equilibrio se piensa que cada 15 días se renueva la totalidad de CD 4+ circulantes, siendo la vida media estimada de un linfocito infectado por el VIH de 1,2 a 2,2 días.

Durante mucho tiempo se ha observado que algunos sujetos que estaban expuestos al VIH no se infectaban con el virus, a pesar de haber estado repetidamente en situaciones de riesgo; estos sujetos (ENI) despertaron la atención de diferentes investigadores que especularon sobre la posibilidad de que existiese una resistencia natural a la infección por el VIH, (que ahora se sabe) tiene origen en la mutación de un gen (CCR2). Estas ideas iniciales se han reforzado con el conocimiento más reciente de los mecanismos patogénicos de la infección, ya que el rápido recambio del VIH, al menos en el plasma, podría sugerir que existen mecanismos naturales que son eficaces eliminando al virus, aunque su naturaleza completa se desconoce en la actualidad.



La aplicación de la genética molecular mediante la tecnología de ADN recombinante ha permitido aislar diferentes genes y obtener el producto que codifican de forma pura. Para algunos autores las citoquinas serían una especie de hormonas celulares. Estas juegan un papel importante en la respuesta inmunitaria e inflamatoria en las que se las puede considerar como un mensajero que llena el vacío de comunicación entre los linfocitos y otras células del sistema inmunológico.

Se sabe que durante su ciclo vital, el VIH necesita penetrar en la célula que infecta para poder replicarse en su interior y producir nuevos viriones. El VIH puede penetrar en las células a través del acoplamiento de los componentes de las membranas de célula y virus. Para ello es necesario la presencia en la célula de receptores de alta afinidad, como la molécula CD4, con la que se produce la fijación de la proteína gp 120 de la envoltura del VIH. También se ha comprobado, *"in vitro"*, que diferentes tipos celulares pueden ser infectados por el VIH y no todos ellos poseen la molécula CD4 (CD4⁻); el VIH no infecta a células de otros animales que sí expresan la molécula CD4 (no pudieron ser infectadas con el VIH, células de ratón que también expresan CD4).

Se sabe que algunos receptores de las quimiocinas juegan un papel en la patogénesis o susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. El VIH-1 o el VIH-2 utilizan algunos receptores CCP o CXC como cofactores de entrada en las células.

El cambio viral de NIS a IS refleja un cambio de tropismo y el VIH, que primero había seleccionado macrófagos para la infección, cambia a la selección de linfocitos T. Se sabe que el correceptor para el virus T-trópico es un receptor de las quimiocinas que se ha denominado fusina (LESTR o CXCR4).

Por otro lado, el VIH M-trópico puede emplear los receptores CCR5 y CCR3 para entrar en la célula, y que una parte específica de la gp 120 del VIH, interactúa con estos receptores después de que la gp 120 se ha acoplado con la molécula CD4, a través del desarrollo de la cadena V3 que muestra el componente por la que se une al CCR5.

El mecanismo exacto por el cual el VIH interactúa con los CXCR4 o CCR5, y la forma en que esta interrelación, junto con la unión CD4, permite al virus entrar en la célula, no se conoce de un modo claro.



Las quimiocinas pueden inhibir la entrada del VIH por competencia, insensibilización, secuestro o internalización con el receptor, a través de la alteración de la afinidad del receptor o inhibiendo pasos post-unión, como la fosforilización o a través de mecanismos de acoplamiento.

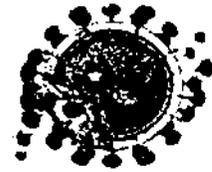
Estos conocimientos dejan posiblemente abiertas las puertas para poder diseñar y ensayar fármacos que ataquen los procesos específicos de acoplamiento viral. Se piensa que el conocimiento más profundo del proceso, permitiría poder alterar la estructura del CCR5 para bloquear la penetración del VIH y que la célula pueda seguir reaccionando a las quimiocinas que lo utilicen, con lo que podría resultar posible diseñar un compuesto que bloquee el correceptor del VIH sin ocasionar una señal biológica no deseada, como puede ocurrir con una quimiocina natural.

Sin embargo, no se debe perder de vista que la función primaria de las quimiocinas es la atracción de monocitos hacia el lugar de la infección, por lo que podrían estimular la infección de otras células. Los datos actuales sugieren que la activación linfocitaria es a la vez un mecanismo facilitador de la infección y de la replicación del VIH, así como un mecanismo de protección, mediante la inducción de la síntesis de factores protectores.



GLOSARIO

- ADN.-** Ácido Desoxirribonucleico.
- ARN.-** Ácido Ribonucleico.
- CAPSIDE.-** Cubierta protéica de los virus que envuelven y protegen el ácido nucleico.
- CAPSÓMERO.-** Nombre con que se designa cada una de las unidades de polipéptidos que constituyen el cápside, su número y disposición son características para cada especie de virus.
- CITOCIDA.-** Destructor de células.
- CROMATINA.-** Porción más colorable del núcleo celular que forma una red de fibrillas (sin carióstoma, cromo y plasma).
- ENDÓGENOS.-** Originado dentro de los organismos independientes de los factores externos. Enzima que cataliza la síntesis del RNA a partir de ribonucleósidos trifosfatos.
- GENOMA.-** Conjunto de los genes de los cromosomas.
- HTLV.-** Virus T linfotrópico.
- LAT.-** Leucemia adulta de células T.
- LAV.-** Virus asociado a linfadenopatías
- LINFOCINAS.-** Factores quimiotácticos que atraen a los fagocitos.
- MONOCITO.-** Leucocito grande. Su función principal es la fagocitosis.
- NUCLEÓTIDO.-** Producto de hidrólisis del ácido nucléico por acción de la nucleasa.
- ONCOVIRIDAE.-** Virus productores de leucemias y tumores animales y SIDA.
- POLIMORFONUCLEARES.-** Que tiene núcleos de muchas formas.
- RIBONUCLEÓTIDO.-** Nucleótido derivado del Ácido Ribonucleico.
- SIDA.-** Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.
- SINCITIO.-** Célula simple o masa protoplasmática con muchos núcleos.
- TeLV.-** Virus de leucemia felina.
- TRANSCRIPTASA.-** Transcripción del RNA polimeraza DNA.dependiente.
- VIH.-** Virus de la Inmunodeficiencia Humana.



BIBLIOGRAFIA

- ¹ Devita, Vincent T. Sida, etiología, diagnóstico, tratamiento y prevención, Segunda edición, Editorial Salvat, 1990.
- ² <http://ctv.es/USERS/fpardo/virus.htm>
- ³ Ramo García, Javier. Sida: manejo de paciente con VIH, Segunda edición, Manual Moderno, 1997.
- ⁴ <http://hinvinsite.ucsf.edu/akb/1997/04over/index.htm>
- ⁵ <http://www.ssa.gob.mx/conasida/arts/spm/soler1.htm>
- ⁶ <http://www.celisalive.com>
- ⁷ <http://www.ssa.gob.mx/conasida/revista/1997/num2/ets2-o4.htm>
- ⁸ <http://www.thebody.com/index.shtm1>
- ⁹ Hill, Mark y Littman, Dan R. "Natural resistance to HIV?" en Nature, Vol. 382, 22 de agosto de 1996, pp. 722-724.
- ¹⁰ Smith, Michael W. et al "Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 Variant on HIV-1 infection and disease progression" en Science, Vol 277, 15 de agosto de 1997, pp. 959-962.
- ¹¹ Desconocido. "Genes que protegen del SIDA" Muy Interesante, 25 de octubre de 1995, pp. 25-27
- ¹² Guzmán Araiza, Itsuri Darani. VIH: Revisión de la literatura, Tesina, UNAM, 1997.
- ¹³ Islas Llanos, Ricardo. Aspectos fundamentales del Virus de la Inmunodeficiencia Humana, Tesis, UNAM, 1996.