



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
FACULTAD DE MEDICINA

CARACTERIZACIÓN DE EPÍTOPOS DE VIH RESTRINGIDOS POR *HLA-B*39* Y SUS RESPUESTAS DE CTLs
ASOCIADAS

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

PRESENTA:

JOSÉ HUMBERTO VALENZUELA PONCE

TUTOR PRINCIPAL:

DR. GUSTAVO REYES TERÁN

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS (CIENI)
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS (INER)

COMITÉ TUTOR:

DR. ENRIQUE ORTEGA SOTO

DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

DR. VIANNEY FRANCISCO ORTIZ NAVARRETE

DEPARTAMENTO DE BIOMEDICINA MOLECULAR, CINVESTAV

CIUDAD DE MÉXICO, ABRIL DE 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Gustavo Reyes Terán, director del Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas (CIENI) del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), director del Grupo del Proyecto Mesoamericano de VIH, y mi tutor, por su enorme y constante apoyo, por su confianza, por su interés en mi formación y por abrirme las puertas de su grupo de investigación.

Al Dr. Santiago Ávila Ríos, investigador principal de la línea de investigación de la Evolución del VIH en Mesoamérica, del CIENI, por su iniciativa en el diseño de estudio, las aportaciones en la discusión de resultados, por su apoyo en la escritura del manuscrito. Gracias por tu amistad y por tu apoyo constante e incondicional desde que llegué al CIENI.

A la M. en C. Claudia García, Daniela Tapia y Silvia del Arenal, valiosísimas integrantes del Proyecto Mesoamericano del VIH, del CIENI, por su excelente e incesante trabajo, sin su ayuda y apoyo este trabajo doctoral no hubiera sido posible.

A los amigos del CIENI, Selma Alva, Daniela Garrido, Maribel Soto, Thalía García, Tania Escamilla, Verónica Quiroz que realizaron extracción de ácidos nucleicos y tipificación HLA, por su excelente trabajo, apoyo y amistad. La cohorte MEX/CAM no se hubiera convertido en la mayor cohorte de VIH⁺ con tipificación HLA en Latinoamérica sin su ayuda.

A Ramón Hernández, Edna Rodríguez, Carolina Demenegui (del Laboratorio de Diagnóstico Viroológico del CIENI), Mario Preciado, Raymundo González e Israel Molina (toma de muestra) por su enorme contribución al presente estudio mediante la realización de pruebas de carga viral y conteo de CD4, y por su constante disposición para apoyar el presente estudio.

A los médicos del CIENI, Akio Murakami, María Gómez y Karla Romero por su enorme ayuda en el reclutamiento de pacientes del presente estudio.

A nuestros colaboradores del Proyecto Mesoamericano de VIH de los países de Centroamérica: Carlos Mejía-Villatoro (Guatemala), Ingrid Y. Escobar-Urias (Guatemala), Rodolfo Pinzón-Meza (Guatemala), Juan Miguel Pascale (Panamá), Yamitzel Zaldivar (Panamá), Guillermo Porras-Cortés (Nicaragua), Carlos Quant-Durán (Nicaragua), Ivette Lorenzana (Honduras), Rita I. Meza (Honduras), Elsa Y. Palou (Honduras), Marvin Manzanero (Belize), Rolando A. Cedillos (El Salvador) por reclutar y compartir sus valiosas muestras, sin las cuales este proyecto no hubiera sido posible.

A los demás miembros del Grupo del Proyecto Mesoamericano del VIH, que incluyen colaboradores de los estados mexicanos y de los países de Centroamérica, su apoyo incondicional en el reclutamiento de pacientes, llenado de cuestionario sociodemográficos y por la gestión el envío de muestras: Sabrina Navas, Leticia García, Cristina Quintana, Yaxelis Mendoza, Sumaya Moreira, Bismarck Hernández, Wendy Murillo, Candy Carbajal, Leda Parham, Diana Valladares, Luisa Pineda, Dixiana Flores, Roxana Motiño, Víctor Umanzor, Oneyda Méndez, Nadina Romero, Jonahi Lizama, María L. Méndez, David de los Santos Cebrero, César Rivera-Benitez, Juan Sierra-Madero, Audelia Alanis-Vega, Luz A. González-Hernández, Jaime Andrade-Villanueva, Jaime Álvarez-Zayas, Héctor Carrillo-Martínez, José L. Centeno, Everardo Barreto, Tanya Campos, Jesús Oaxaca-Navarro, Ricardo Aya de la Fuente, César A. Carrasco-Ayala, Lesvia M. Rivera-Abarca, Gabriela Velázquez, Elizabeth Papaqui-Limón, Indiana Torres-Escobar, María J. del Carmen-Ricalde, David Valenzo-Loeza, Carlos A. Barrera-Arellano, Adrián Flores-Gaxiola, Carlos A. Avilez-Gaxiola, Adonay Jiménez-Jiménez, Juan Beltrán-Saldaña, Arturo Artega-Martínez, Elizabeth Domínguez-Ramírez, Jorge M. de la Roca-Chiapas, Miriam J. García-Collins, Hilda Basilio-Badillo, Dulce M. Cruz-Lavadores, Carlos R. González-Álvarez, Luis E. Arias-Tlaculio y Samuel Navarro-Álvarez.

A Zeidy Arenas, del CIENI, por su intensa labor administrativa y constante apoyo hacia el presente proyecto.

A Guadalupe Hernández, María de Jesús Espinosa, Berenice Cancino y Eduardo López, del CIENI, por su apoyo administrativo y organizacional, fundamental para la realización del presente estudio.

A Héctor Esteban Paz y Pablo César, miembros del grupo informático del CIENI, por su valioso apoyo en el establecimiento de bases de datos y por proporcionar los equipos necesarios para los análisis estadísticos.

A la Dra. Zabrina Brumme, de la Faculty of Health Sciences, Simon Fraser University (Canada), por su enorme ayuda en el diseño del presente estudio, discusión de resultados y análisis estadísticos, en la revisión del manuscrito publicado y por su formidable apoyo incondicional en todas las etapas del presente trabajo doctoral.

Al Dr. Chanson Brumme, del British Columbia Centre for Excellence in HIV/AIDS (Canadá), por su apoyo en los análisis estadísticos de la cohorte HOMER, primordiales en la justificación del presente estudio.

Al Dr. Richard Harrigan, del British Columbia Centre for Excellence in HIV/AIDS (Canadá), por permitir el uso de la base de datos de la cohorte HOMER.

Al Dr. Douglas Nixon, de la George Washington University, por su constante ayuda en la discusión de resultados del presente estudio.

Al Dr. Enrique Ortega Soto y al Dr. Vianney Francisco Ortiz Navarrete por su asesoría académica como parte de mi comité tutorial.

Al Dr. Gilberto Vargas Alarcón, a la Dra. Martha Esthela Pérez Rodríguez, al Dr. Alejandro Zentella Dehesa y a la Dra. Leonor Huerta Hernández, por formar parte del jurado de examen de grado, por sus sugerencias y opiniones para la presente tesis doctoral.

A todos mis compañeros y amigos del CIENI, que de alguna manera participaron y facilitaron en alguna etapa el presente trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas por su apoyo en la realización de este proyecto.

Al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, sede de la realización del presente estudio.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo económico (beca 245172).

Agradezco a todos los individuos que viven con VIH que voluntariamente decidieron participar en el presente estudio. Su contribución fue sumamente valiosa para la generación de información sobre la epidemia de VIH/SIDA en nuestro país y en los países de Centroamérica con posibles aplicaciones al conocimiento mundial de esta enfermedad. El fin posterior de nuestro proyecto de investigación es que se logre mejorar su calidad de vida en un futuro no muy lejano.

Financiamiento

El presente trabajo doctoral fue financiado por el gobierno de México (Comisión de Equidad y Género de las Legislaturas LX-LXI, Comisión de Igualdad de Género de la Legislatura LXII de la H. Cámara de Diputados) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, SALUD-2013-01-202475). Este trabajo también fue financiado en parte por una subvención de los Canadian Institutes for Health Research (CIHR) para Zabrina L. Brumme, Santiago Ávila Ríos, Gustavo Reyes Terán y Mark A. Brockman (PJT-148621). Humberto Valenzuela Ponce es un estudiante del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, y recibió una beca (número 245172) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, la recopilación y análisis de datos, la decisión de publicar o la preparación de esta tesis doctoral. Los autores declaran no tener conflicto de intereses financieros.

INDICE

| | |
|---|-----------|
| INDICE DE FIGURAS | 7 |
| INDICE DE TABLAS | 10 |
| INDICE DE MATERIAL SUPLEMENTARIO | 11 |
| 1. RESUMEN | 12 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 14 |
| 2.1 PANORAMA MUNDIAL DE LA EPIDEMIA DE VIH/SIDA | 14 |
| 2.1.1 LAS MUERTES RELACIONADAS CON EL VIH/SIDA SIGUEN DISMINUYENDO | 16 |
| 2.1.2 LAS NUEVAS INFECCIONES POR EL VIH ESTÁN LEJOS DEL RITMO NECESARIO PARA ALCANZAR EL OBJETIVO 2020 PROPUESTO POR ONUSIDA | 18 |
| 2.1.3 POBLACIONES CON MAYOR RIESGO DE INFECCIÓN POR VIH | 19 |
| 2.2 LA EPIDEMIA DEL VIH/SIDA EN LATINOAMÉRICA Y MESOAMÉRICA | 20 |
| 2.3 VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) | 22 |
| 2.3.1 INTRODUCCIÓN Y ORIGEN | 22 |
| 2.3.2 TRANSMISIÓN DEL VIH | 25 |
| 2.3.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ESTRUCTURA | 26 |
| 2.3.4 CICLO DE REPLICACIÓN DEL VIH | 28 |
| 2.3.5 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD POR VIH | 33 |
| 2.4 LA INMUNOGENÉTICA DE LA ENFERMEDAD POR VIH | 35 |
| 2.4.1 GENÉTICA Y FUNCIÓN DE LOS GENES HLA Y KIR | 36 |
| 2.4.2 LOS <i>LOC</i> HLA Y EL VIH | 39 |
| 2.4.3 VENTAJA DE LOS HETEROCIGOTOS EN LOS <i>LOC</i> HLA | 39 |
| 2.4.4 DIVERSIDAD DE LOS ALELOS HLA DE CLASE I Y LA PROGRESIÓN A LA ENFERMEDAD POR VIH | 41 |
| 2.4.5 DIVERSIDAD DE LOS ALELOS HLA DE CLASE II Y LA PROGRESIÓN A LA ENFERMEDAD POR VIH | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.6 LOS ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN A NIVEL DE GENOMA COMPLETO (<i>GWAS</i>) EN LA ENFERMEDAD POR VIH | 46 |
| 2.5 COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD | 48 |
| 2.5.1 ORGANIZACIÓN GENÉTICA | 48 |
| 2.5.2 GENES MHC DE CLASE I | 50 |
| 2.5.3 GENES MHC DE CLASE II Y III | 51 |
| 2.5.4 ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS HLA | 51 |
| 2.5.5 NOMENCLATURA DE LOS GENES HLA | 56 |
| 2.5.6 EXPRESIÓN Y REGULACIÓN DE LOS GENES HLA | 58 |
| 2.5.7 POLIMORFISMO GENÉTICO DE LOS GENES HLA | 60 |
| 2.6 OPTIMIZACIÓN DE MATRICES DE PÉPTIDOS PARA IDENTIFICAR ANTÍGENOS DE VIH RESTRINGIDOS POR LINFOCITOS T | 61 |
| 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 63 |
| 4. OBJETIVOS | 64 |
| 4.1 OBJETIVO GENERAL | 64 |
| 4.2 OBJETIVOS PARTICULARES | 64 |
| 5. HIPÓTESIS | 65 |
| 6. MÉTODO | 65 |
| 6.1 DECLARACIÓN ÉTICA | 65 |
| 6.2 COHORTES DE MÉXICO Y DE CENTROAMÉRICA | 65 |
| 6.3 COHORTE DE REFERENCIA HOMER | 66 |
| 6.4 SUBTIPICACIÓN DE VIH | 67 |
| 6.5 PARÁMETROS CLÍNICOS DE VIH | 67 |
| 6.6 TIPIFICACIÓN DE LOS <i>LOC</i> HLA DE CLASE I | 67 |
| 6.7 ANÁLISIS DE DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO HLA | 69 |
| 6.8 COMPARACIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS HLA | 69 |

| | |
|---|-----------|
| 6.9 ANÁLISIS UNIVARIABLE Y MULTIVARIABLE DE LAS ASOCIACIONES HLA Y PARÁMETROS CLÍNICOS DE VIH | 69 |
| 6.10 COMPLEJIDADES ADITIVAS HLA | 71 |
| 6.10.1 EFECTO ADITIVO DE ALELOS HLA PROTECTORES Y DE RIESGO | 71 |
| 6.10.2 EFECTOS DEPENDIENTES DE FRECUENCIA HLA | 71 |
| 6.10.3 VENTAJA DE LOS HETEROCIGOTOS HLA | 72 |
| 6.11 COMPARACIÓN DE PARÁMETROS CLÍNICOS ASOCIADOS A LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD POR VIH ENTRE LOS ALELOS <i>B*35</i> Y LOS GRUPOS <i>B*35-PX/PY</i> | 72 |
| 6.12 CARACTERIZACIÓN DE EPÍTOPOS DE VIH | 73 |
| 6.12.1 ENSAYOS DE ELISPOT IFN γ | 73 |
| 6.12.2 MEZCLAS (<i>POOLS</i>) DE PÉPTIDOS DE NEF | 74 |
| 6.12.3 BÚSQUEDA DE EPÍTOPOS POR ALGORITMOS COMPUTACIONALES (<i>MOTIF SCAN</i>) | 75 |
| 6.12.4 MATRIZ DE 769 PÉPTIDOS DE TODO EL PROTEOMA DE VIH (MATRIZ M88-35-4) | 75 |
| 7. RESULTADOS | 76 |
| 7.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS COHORTES MEX Y CAM | 76 |
| 7.2 EL PERFIL INMUNOGENÉTICO ÚNICO DE LOS INDIVIDUOS INFECTADOS POR VIH EN MESOAMÉRICA (COHORTE MEX/CAM) | 77 |
| 7.3 LAS ASOCIACIONES HLA CON LA CARGA VIRAL (CVP) DE VIH EN MEX/CAM INCLUYEN ASOCIACIONES TANTO CANÓNICAS COMO NOVEDOSAS | 82 |
| 7.4 NUEVAS ASOCIACIONES ADICIONALES ENTRE LOS ALELOS HLA AMERINDIOS Y EL CONTROL (RIESGO O PROTECCIÓN) DEL VIH | 85 |
| 7.5 ANÁLISIS SECUNDARIOS UTILIZANDO SÓLO LA CARGA VIRAL (CVP) Y EL CONTEO DE CD4 | 94 |
| 7.6 VARIACIÓN REGIONAL DE LAS ASOCIACIONES HLA-VIH ENTRE LAS COHORTES MEX Y CAM | 95 |
| 7.7 COMPLEJIDADES ADITIVAS HLA | 98 |
| 7.7.1 EFECTO ADITIVO DE ALELOS HLA PROTECTORES Y DE RIESGO | 98 |
| 7.7.2 EFECTOS DEPENDIENTES DE FRECUENCIA HLA | 104 |
| 7.7.3 VENTAJA DE LOS HETEROCIGOTOS HLA | 107 |

| | |
|---|------------|
| 7.8 IMPACTO DE LOS ALELOS <i>HLA-B*35</i> Y LOS GRUPOS <i>B*35-PX/PY</i> SOBRE LA PROGRESIÓN A LA ENFERMEDAD POR VIH EN LA COHORTE MEX/CAM | 109 |
| 7.8.1 DIVERSIDAD, FRECUENCIA E IMPACTO DE LOS ALELOS <i>B*35</i> EN MEX/CAM | 109 |
| 7.8.2 EFECTO ADITIVO DE LOS ALELOS <i>B*35</i> | 111 |
| 7.8.3 LOS GRUPOS <i>B*35-PX</i> Y <i>PY</i> SE ASOCIAN A LA PROGRESIÓN AL RIESGO DE PROGRESIÓN A LA ENFERMEDAD | 114 |
| 7.9 CARACTERIZACIÓN DE EPÍTOPOS DE VIH RESTRINGIDOS POR <i>HLA-B*39</i> | 117 |
| 7.9.1 CARACTERIZACIÓN DE EPÍTOPOS DE <i>NEF</i> RESTRINGIDOS POR LOS ALELOS <i>HLA-B*39</i> | 119 |
| 7.9.2 MAPEO DE RESPUESTAS INMUNES DE TODO EL PROTEOMA DE VIH (MATRIZ M88-35-4) | 122 |
| 8. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS | 127 |
| <hr/> | |
| 10. REFERENCIAS | 134 |
| <hr/> | |
| 11. APÉNDICES | 145 |
| <hr/> | |
| 11.1 MIEMBROS DEL GRUPO DEL PROYECTO MESOAMERICANO DE VIH | 145 |
| 11.2 DECLARACIÓN DE LAS CONTRIBUCIONES DE CADA AUTOR PARA ESTA TESIS DOCTORAL | 146 |
| 11.3 PUBLICACIÓN DE RESULTADOS EN ARTÍCULOS CIENTÍFICOS | 146 |
| 11.4 TABLAS SUPLEMENTARIAS | 148 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Disminución mundial de las muertes de mujeres que viven con VIH..... | 16 |
| Figura 2. Mayor disminución de muertes relacionadas al VIH/SIDA en África oriental y del sur. | 17 |
| Figura 3. La reducción de nuevas infecciones por VIH está lejos del objetivo 2020 propuesto por ONUSIDA..... | 18 |
| Figura 4. Las poblaciones clave son importantes en todas las epidemias de VIH (prevalencia alta y baja)..... | 20 |
| Figura 5. Origen de los virus del SIDA..... | 23 |

| | |
|---|----|
| Figura 6. Distribución regional de los subtipos de VIH-1 y sus recombinantes..... | 24 |
| Figura 7. Estructura del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). | 27 |
| Figura 8. Estructura genómica del VIH. | 28 |
| Figura 9. Eventos tempranos en el ciclo de replicación: fusión, retrotranscripción e integración. | 30 |
| Figura 10. Eventos tardíos en el ciclo de replicación: transcripción, traducción y gemación viral. | 33 |
| Figura 11. Historia natural de la enfermedad por VIH en ausencia de TAR. | 34 |
| Figura 12. Efecto de los alelos <i>HLA-B</i> sobre el conteo de CD4 y la CVp a través del tiempo. | 45 |
| Figura 13. Estudio de asociación de genoma completo (<i>GWAS</i>) en sujetos VIH+ de origen caucásico..... | 47 |
| Figura 14. Aminoácidos del surco de unión a péptido de la molécula <i>HLA-B</i> asociados en <i>GWAS</i> al control del VIH. | 48 |
| Figura 15. Mapa genético detallado de los genes del Complejo Principal de Histocompatibilidad..... | 49 |
| Figura 16. Estructura de las moléculas HLA de clase I..... | 53 |
| Figura 17. Estructura de las moléculas HLA de clase II..... | 54 |
| Figura 18. Dominio de unión a péptido de las moléculas HLA de clase I y II..... | 55 |
| Figura 19. Residuos polimórficos de las moléculas HLA de clase I y II. | 55 |
| Figura 20. Nomenclatura HLA. | 58 |
| Figura 21. Los genes HLA se heredan en haplotipos. | 59 |
| Figura 22. Alelos HLA descubiertos entre 1987 y 2017..... | 60 |
| Figura 23. Comparación de las frecuencias alélicas HLA de clase I entre la cohorte mestiza MEX/CAM (n=3213) y la cohorte mayoritariamente caucásica HOMER (n=1622). | 79 |
| Figura 24. Estructura de haplotipos HLA de clase I y desequilibrio de ligamiento en las cohortes de MEX y CAM. | 81 |
| Figura 25. Asociaciones HLA y la CVp de VIH en las cohortes MEX/CAM y HOMER. | 84 |

| | |
|--|-----|
| Figura 26. Correlación entre los scores HLA-VIH y las medianas de los parámetros clínicos asociados a los alelos HLA de protección y de riesgo en la cohorte combinada MEX/CAM (paneles A-E), la cohorte MEX (paneles F-J) y la cohorte CAM (paneles K-O). | 86 |
| Figura 27. Asociaciones HLA-VIH utilizando 5 parámetros clínicos de VIH en las cohortes mestizas MEX/CAM, MEX y CAM. | 89 |
| Figura 28. Correlación entre los scores HLA-HIV de 5 parámetros clínicos obtenidos con Mann-Whitney (MW U) y regresión lineal (GLM). | 90 |
| Figura 29. Análisis multivariable de las asociaciones HLA-VIH en la cohorte combinada MEX/CAM y en las cohortes individuales utilizando 5 parámetros clínicos..... | 92 |
| Figura 30. Correlaciones entre los scores o puntajes de las asociaciones HLA-VIH dentro y entre cohortes. | 93 |
| Figura 31. Correlación entre los scores basados en 5 (CVp, CD4, Z-score, %CD4 y CD4/CD8) y 2 (sólo CVp y CD4) parámetros de los análisis univariados y multivariados..... | 96 |
| Figura 32. Comparación de frecuencias alélicas HLA de clase I entre las cohortes MEX (n=1679), CAM (n=1534) y HOMER (n=1622). | 97 |
| Figura 33. Efecto aditivo de los alelos <i>HLA-B</i> protectores y de riesgo. | 100 |
| Figura 34. Efecto aditivo de los alelos <i>HLA-A</i> , -B y -C protectores y de riesgo. | 103 |
| Figura 35. Efecto dependiente de frecuencia HLA (frecuencia alélica HLA vs mediana de parámetro clínico HLA) | 106 |
| Figura 36. Efecto dependiente de frecuencia HLA (correlación frecuencia combinada HLA vs CVp/CD4/Z-score) | 107 |
| Figura 37. Ventaja de los heterocigotos HLA | 108 |
| Figura 38. Comparación de frecuencias alélicas de los alelos B*35 con n>10 en las cohortes MEX y CAM. | 110 |
| Figura 39. Comparación parámetros clínicos (CVp y conteo de CD4) de VIH asociados a los alelos B*35 en la cohorte MEX/CAM. | 111 |
| Figura 40. Efecto aditivo de los alelos de riesgo B*35 en la cohorte MEX/CAM..... | 113 |
| Figura 41. Comparación de parámetros clínicos entre los grupos B*35-PX/PY. | 116 |

| | |
|---|-----|
| Figura 42. Alineamiento de aminoácidos en las posiciones 114 y 116 del surco de unión a péptido y aa de anclaje de preferencia de los alelos B*35 expresados en la cohorte MEX/CAM..... | 117 |
| Figura 43. Respuestas de EliSpot a péptidos sobrelapados de Nef | 121 |
| Figura 44. Mapa de epítomos de Nef: posibles epítomos no óptimos restringidos por B*39:05/06 (EliSpot) y epítomos virtuales para B*39:01/02/09 (Motif Scan)..... | 122 |
| Figura 45. Posibles respuestas de CTLs ante la matriz de péptidos m88-35-4..... | 124 |
| Figura 46. Las respuestas inmunes de CTLs correlacionan con la CVp en individuos sin TAR | 124 |
| Figura 47. Las respuestas de CTLs se distribuyen sobre todo el proteoma de VIH y se agrupan en regiones inmunodominantes | 126 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----|
| Tabla 1. Estadísticas de prevalencia de VIH y cascada 90-90-90 en Mesoamérica | 22 |
| Tabla 2. Proteínas del VIH y sus funciones. | 27 |
| Tabla 3. Las asociaciones del antígeno leucocitario humano (HLA) y la enfermedad por VIH-1. | 39 |
| Tabla 4. Resumen de alelos, proteínas y nulos distintos de los <i>loci</i> HLA..... | 61 |
| Tabla 5. Matriz de mezclas de péptidos de Nef | 75 |
| Tabla 6. Características clínicas y demográficas de las cohortes MEX y CAM..... | 77 |
| Tabla 7. Resumen de asociaciones HLA-VIH obtenidos en análisis univariable. | 85 |
| Tabla 8. Epítomos de VIH-1 restringidos por alelos B*39 descritos previamente por ensayos de EliSpot | 119 |
| Tabla 9. Motivos de reconocimiento conocidos del grupo alélico <i>HLA-B*39</i> | 119 |

INDICE DE MATERIAL SUPLEMENTARIO

| | |
|---|-----|
| Tabla Suplementaria S 1. Lista de ambigüedades HLA por falta de resolución de fase gamética..... | 148 |
| Tabla Suplementaria S 2. Desequilibrio de ligamiento HLA de <i>2-loci</i> en la cohorte MEX. | 149 |
| Tabla Suplementaria S 3. Desequilibrio de ligamiento HLA de <i>3-loci</i> en la cohorte MEX. | 151 |
| Tabla Suplementaria S 4. Desequilibrio de ligamiento HLA de <i>2-loci</i> en la cohorte CAM. | 152 |
| Tabla Suplementaria S 5. Desequilibrio de ligamiento HLA de <i>3-loci</i> en la cohorte CAM. | 154 |
| Tabla Suplementaria S 6. Desequilibrio de ligamiento HLA de <i>2-loci</i> en la cohorte combinada MEX/CAM..... | 154 |
| Tabla Suplementaria S 7. Desequilibrio de ligamiento HLA de <i>3-loci</i> en la cohorte combinada MEX/CAM..... | 157 |
| Tabla Suplementaria S 8. Comparación de análisis univariables utilizando la prueba U de Mann-Whitney y regresión lineal (Modelo Lineal Generalizado, GLM) en la cohorte MEX/CAM y en las cohortes individuales..... | 160 |
| Tabla Suplementaria S 9. Resumen de análisis multivariable en la cohorte combinada MEX/CAM (tabla superior) y las cohortes individuales (tablas inferiores). | 160 |
| Tabla Suplementaria S 10. Resumen de análisis univariables y multivariables de las asociaciones HLA-VIH de PROTECCIÓN y de RIESGO usando 5 parámetros clínicos en la cohorte combinada MEX/CAM y en las cohortes individuales. | 160 |

1. RESUMEN

Las asociaciones entre los alelos HLA de clase I y la progresión a la enfermedad por el VIH-1 en poblaciones que exhiben una mezcla genética de componentes caucásicos y amerindios han sido poco estudiadas. Utilizando análisis univariable y multivariable, evaluamos las asociaciones HLA en relación con 5 parámetros clínicos de VIH de interés para la progresión a la enfermedad en 3,213 individuos infectados por VIH-1 subtipo B vírgenes a tratamiento antirretroviral de la región Mesoamericana (México y 6 países de Centroamérica, cohorte MEX/CAM). Una cohorte de referencia canadiense (HOMER) que exhibe alelos HLA principalmente caucásicos se usó para comparación. Como se esperaba, las frecuencias de los alelos HLA entre la cohorte MEX/CAM y la cohorte HOMER difirieron marcadamente. En la cohorte MEX/CAM, 51 alelos HLA (13 en *HLA-A*, 24 en *HLA-B* y 14 en *HLA-C*) se asociaron significativamente con al menos un parámetro clínico. Estos incluyeron a los alelos previamente descritos asociados a la protección (por ejemplo, *B*27:05*, *B*57:01/02/03* y *B*58:01*) y al riesgo (por ejemplo, *B*35:02*), así como otras nuevos alelos que no se habían asociado al control del VIH (por ejemplo, *A*03:01*, *B*15:39* y *B*39:02* identificados como protectores, y *A*68:03/05*, *B*15:30*, *B*35:12/14*, *B*39:01/06*, *B*39:05~C*07:02* y *B*40:01~C*03:04* identificados como de riesgo). Notablemente, tanto subtipos protectores (por ejemplo, *B*39:02*) como los de riesgo (por ejemplo, *B*39:01/05/06*) se identificaron dentro del grupo alélico frecuente y genéticamente diverso expresado en poblaciones amerindias *HLA-B*39*. Si bien las asociaciones HLA-VIH identificadas por separado en las cohortes MEX y CAM fueron en general similares (rho de Spearman = 0.334, p=0.03), también se observaron asociaciones HLA-VIH específicas de cada región. Encontramos evidencias de que el estado de la enfermedad a nivel individuo es probablemente el resultado del haplotipo HLA completo de cada individuo en lugar de un efecto dominante de un único alelo HLA protector o de riesgo (efecto aditivo HLA). La previa observación de que el efecto negativo del grupo *B*35* se debe únicamente a los alelos PX no está soportada por los análisis en la presente cohorte mestiza, ya que el grupo PY también se asoció significativamente con la progresión a la enfermedad. En virtud de su similitud con otros miembros del grupo PX, *B*35:12* representa un nuevo miembro putativo del grupo PX asociado al riesgo de progresión a la enfermedad por VIH. Hemos descrito 7 posibles epítomos no óptimos de la proteína viral *Nef* restringidos por los subtipos *B*39:05* y *B*39:06* cuyos motivos de reconocimiento se pudieron dilucidar gracias a la predicción de epítomos virtuales predichos para otros subtipos de *B*39*. Al utilizar una estrategia optimizada de búsqueda de respuestas de CTLs (EliSpot IFN γ utilizando pools de péptidos de todo el proteoma de VIH), la detección de respuestas generales de CTLs identificó una amplitud sin precedente en la distribución de péptidos con probable reconocimiento, siendo las proteínas de Gag, las proteínas accesorias y *Nef* las mayormente

reconocidas. La identificación de tanto asociaciones HLA-VIH canónicas como novedosas proporciona el primer paso hacia una mejor comprensión del control inmune del VIH en poblaciones mestizas que exhiben un contexto inmunogenético único y que han sido poco estudiadas. En conclusión, los resultados de nuestro estudio son relevantes para la última búsqueda de vacunas efectivas contra el VIH, ya sean profilácticas o terapéuticas, globales o adaptadas geográficamente. En particular, la caracterización detallada (y monitorización continua) de las asociaciones HLA con los parámetros clínicos de VIH en poblaciones humanas étnicamente diversas afectadas por la epidemia de VIH puede ayudar a informar el diseño y la construcción de vacunas basadas en epítomos de CTLs, para predecir la cobertura poblacional relativa de tales construcciones de vacunas, y en última instancia, ayudar en la interpretación de los resultados de futuros ensayos de vacunas contra el VIH en un contexto inmunogenético tan particular como nuestra población de estudio.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Panorama mundial de la epidemia de VIH/SIDA

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) es el agente etiológico detrás de la epidemia mundial del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Desde que se identificó el VIH por primera vez a principios de la década de los 1980, aproximadamente 76.1 millones de personas se han infectado por el virus, lo que provocó que 35 millones de muertes¹. En el 2016, un estimado de 36.7 millones de personas vivían con VIH¹. La región de África subsahariana, especialmente África oriental y del sur, tiene el mayor número de personas infectadas por el VIH (43%)¹. La epidemia mundial de la infección por VIH ha cambiado notablemente como resultado de la ampliación del acceso a la terapia antirretroviral (TAR o ART, por sus siglas en inglés), en junio del 2017, 20.9 millones de personas tenían acceso a TAR en comparación a los 17.1 millones de personas en 2015 y los 7.7 millones en 2010. La prevalencia mundial del VIH ha aumentado de 31 millones en 2002 a 36.7 millones en 2016, porque las personas que reciben TAR viven más tiempo², mientras que la incidencia mundial ha disminuido de 3.3 millones en 2002 a 1.8 millones en 2016¹. La reducción de la incidencia mundial de VIH se debe en gran medida a la reducción de la transmisión heterosexual. Las actitudes punitivas hacia las personas que se inyectan drogas (especialmente en Europa oriental) restringen la implementación del tratamiento de sustitución de opioides y los programas de jeringas y agujas, que son estrategias de prevención efectivas para la reducción de la transmisión del VIH³. En regiones donde la principal vía de transmisión ocurre entre hombres que tienen sexo con hombres (HSH, por ejemplo, Europa occidental y central, y en América), la incidencia es estable a pesar de la alta cobertura de TAR (58%) en 2016. Los impulsores de la epidemia de VIH en HSH son complejos e incluyen comportamientos de riesgo crecientes desde la introducción de un TAR eficaz (un fenómeno denominado optimismo terapéutico⁴), alto riesgo de transmisión sexual anal receptiva, redes sexuales y la restricción a servicios de seguridad social regidos por el estigma y discriminación⁵. Las nuevas infecciones por VIH en niños descendieron un 47% desde 2010, desde 300 mil (230-370 mil) en 2010 hasta 160 mil (100-220 mil) en 2016, debido al mayor acceso a antirretrovirales para prevenir la transmisión vertical de madre a hijo. Sin embargo, el acceso a TAR es mucho más bajo en niños que en adultos¹. El VIH es uno de los principales contribuyentes a la carga mundial de la morbilidad. En 2010, el VIH fue la causa principal de años vida ajustados por discapacidad en todo el mundo para las personas de 30 a 44 años, y la quinta causa principal para todas las edades⁶. Las muertes globales relacionadas con el SIDA alcanzaron un máximo de 2.3 millones en 2005 y disminuyeron a un millón (estimado 830,000-1.2 millones) en 2016. Aproximadamente, el 50% de todas las muertes en personas bajo TAR en países de alto ingreso no se debe al SIDA⁷. Las causas principales de las muertes no relacionadas

con el SIDA fueron los cáncer que no defintorios de SIDA (23.5%), las enfermedades cardiovasculares (15.7%) y las enfermedades hepáticas (14.1%)⁷. Las personas que viven con VIH tienen un 50% más de riesgo de infarto de miocardio que las personas sin VIH después del ajuste por factores de riesgo cardiovascular⁸. La enfermedad hepática es común principalmete debido a la coinfección con hepatitis B y C, que comparten rutas similares de transmisión con VIH⁹.

La tuberculosis sigue siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en países de bajos y medianos ingresos (especialmente en África¹⁰), representando alrededor de una de cada tres muertes relacionadas con el SIDA. En 2015, se estimó que hubo 10.4 millones de casos de tuberculosis en el mundo, incluyendo 1.2 millones (11%) entre las personas que viven con VIH. Los hallazgos de un estudio realizado en Sudáfrica¹¹ en la era anterior de la terapia antirretroviral mostraron que la tuberculosis se duplicó en un año después de la infección por VIH, luego la incidencia aumentó a medida que disminuyó la inmunidad y alcanzó una incidencia muy alta de 25.7 por cada 100 años-persona en pacientes con conteos de CD4 inferiores a 50 céls/ μ l¹². Las muertes relacionadas con la tuberculosis entre las personas que viven con VIH disminuyeron en un 33% entre 2005 y 2015¹. Sin embargo, el 57% de los casos de tuberculosis entre las personas que viven con VIH no fueron diagnosticados ni tratados, lo que resultó en 390,000 muertes relacionadas con la tuberculosis y VIH en el 2015¹. Aunque la terapia antirretroviral (TAR o ART, por sus siglas en inglés) ha transformado el manejo y pronóstico de la infección trayendo una gran esperanza para las personas que viven con VIH, solo un 57% de las personas que viven con VIH tienen acceso a la TAR¹. Dada la magnitud y el carácter global que ha tomado la epidemia de VIH/SIDA, el interés y el destino de recursos para el estudio del virus ha sido enorme. A finales del 2016, se disponía de 19.1 mil millones de dólares para la respuesta al SIDA en países de bajo y mediano ingreso. Los recursos nacionales constituyeron el 57% de los recursos totales para el VIH en los países de ingresos bajos y medianos en 2016. ONUSIDA estima que se necesitarán 26.2 mil millones de dólares para la respuesta al SIDA en 2020, y se necesitarán 23.9 mil millones de dólares en 2030¹. Sin embargo, aún con todo el esfuerzo realizado en el estendimiento de la virología e inmunopatogénesis de este patógeno, una estrategia factible que pueda solucionar el problema mundial del VIH/SIDA se encuentra todavía lejos. El único ensayo clínico avanzado de una vacuna candidata para el VIH que ha tenido una eficacia modesta (31.2%) representa un gran aliento e inyectó confianza y certidumbre en la búsqueda una vacuna contra el VIH¹³. Más aún, la gran diversidad genética y la capacidad adaptativa características del virus, aunadas a una notable variabilidad y complejidad de la respuesta inmune en las diferentes poblaciones del mundo, representan un reto enorme para el desarrollo de una vacuna efectiva contra el virus. Profundizar en el conocimiento de la replicación del VIH, en las múltiples interacciones de los componentes virales con la maquinaria molecular de la célula hospedera y en las

características particulares de la compleja inmunopatogénesis viral, así como en la identificación de las respuestas inmunes efectivas para el control del virus podría llevar finalmente a la elucidación de estrategias útiles de control retroviral. Adicionalmente, estudios comparativos enfocados a diferentes poblaciones infectadas serán necesarias para obtener un panorama más completo de la capacidad de adaptación del virus a diversas poblaciones humanas y sus posibilidades de evolución a nivel poblacional, llevando una posibilidad más real de desarrollar una vacuna candidata efectiva para el control de la epidemia de VIH/SIDA.

2.1.1 Las muertes relacionadas con el VIH/SIDA siguen disminuyendo

El escalamiento a nivel mundial de la terapia antirretroviral (TAR o ART, por sus siglas en inglés) ha sido la principal contribución al descenso del 48% en las muertes por causas relacionadas al VIH/SIDA, desde un máximo de 1.9 millones (estimado entre 1.7-2.2 millones) en el año 2005 a 1 millón (estimado entre 830,000-1.2 millones) en 2016. A pesar de que el 51% de las personas que viven con VIH en todo el mundo son mujeres, una mayor cobertura de TAR y una mejor adherencia al mismo ha conducido a un descenso más rápido de las muertes entre mujeres que viven con VIH: las muertes por enfermedades relacionadas con el SIDA fueron un 27% más bajas entre las mujeres y niñas en 2016 que entre los hombres y niños. No obstante, las enfermedades relacionadas con el VIH/SIDA siguen siendo la principal causa de muerte entre las mujeres en edad reproductiva (15-49 años) a nivel mundial, y son la segunda causa de muerte entre las jóvenes de 15 a 24 años en África¹⁴ (Figura 1).

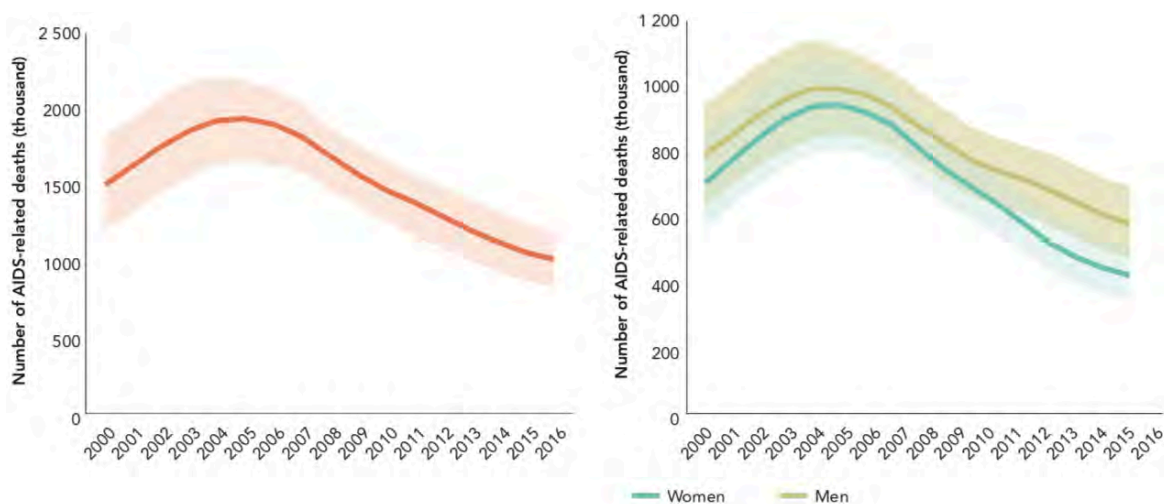


Figura 1. Disminución mundial de las muertes de mujeres que viven con VIH.

En el panel de la izquierda se muestra las muertes relacionadas con el VIH/SIDA a nivel mundial reportadas desde el 2000-2016. En el panel de la derecha se muestran las muertes relacionadas con el VIH/SIDA, pero estratificados por género (mujeres en azul y hombres en verde olivo) para el mismo rango de años. En ambas gráficas se incluyen a todos los rangos de edad. Fuente: estimados de UNAIDS 2017 (www.unaids.org).

El número de niños (0-14 años) que mueren por enfermedades relacionadas con el SIDA se ha reducido a la mitad en sólo seis años, de 210 mil (estimado 160-260 mil) en 2010 a 120 mil (estimado 79-160 mil) en 2016. Gran parte de la disminución se debe a la gran reducción en las nuevas infecciones por VIH en niños, y también juega un papel importante el mayor acceso a TAR pediátrico.

Las disminuciones en las muertes por enfermedades relacionadas con el SIDA fueron más agudas en el este y el sur de África, donde alcanzaron un máximo de 1.1 millones (estimado 950 mil – 1.2 millones) en 2004 y luego cayó en un 62% a 420 mil (estimado 350 – 510 mil) en el año 2016, una tendencia que refleja al rápido escalamiento de la terapia antirretroviral en la región (Figura 2). También disminuyeron las muertes relacionadas con el SIDA durante la última década en el Caribe (reducción de 52%), Europa occidental y central, y América del Norte (no incluido México, reducción de 45%), Asia y el Pacífico (reducción de 39%) y África occidental y central (reducción de 30%). En América Latina, donde el acceso a la terapia antirretroviral se produjo antes y de manera más gradual que en la mayoría de las demás regiones, la disminución de las muertes en los últimos 10 años fue de sólo 16% (Figura 2). Se han producido preocupantes aumentos de la mortalidad relacionada a VIH/SIDA en la última década en Medio Oriente y África del Norte (aumento del 48%) y Europa oriental y Asia central (aumento del 38%).

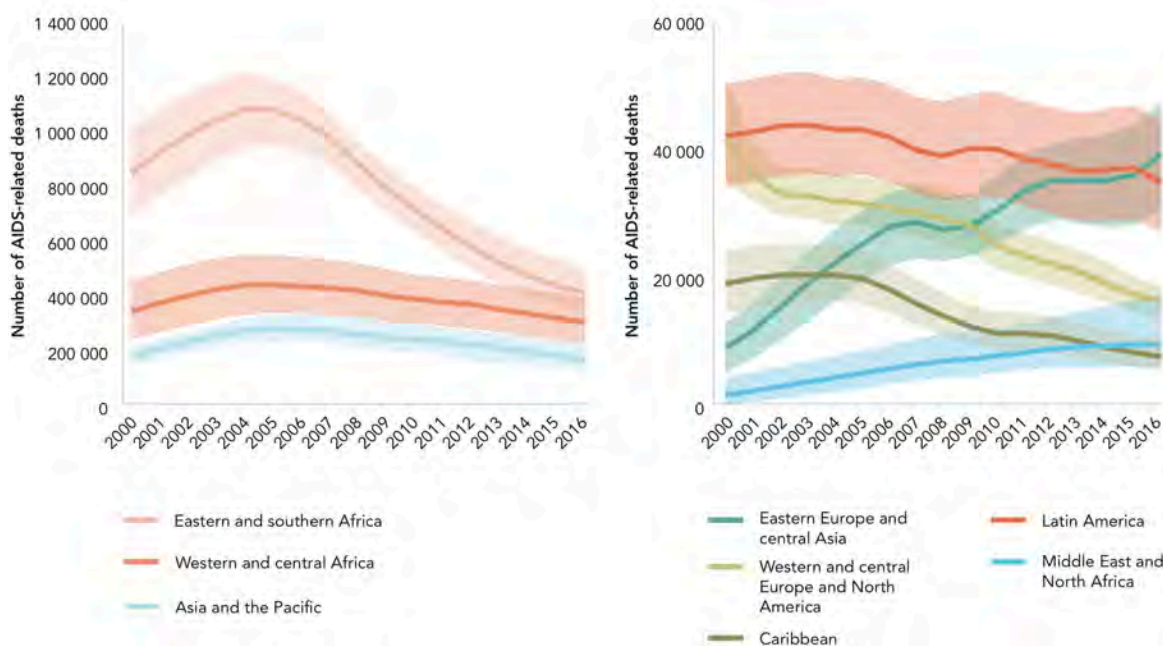


Figura 2. Mayor disminución de muertes relacionadas al VIH/SIDA en África oriental y del sur.

Se muestran las muertes relacionadas al VIH/SIDA en las diferentes regiones del mundo entre los años 200-2016. En el panel de la izquierda se muestran las regiones de África oriental y del sur, África central y occidental, y Asia y el Pacífico. En el panel de la derecha se observan las estadísticas

2.1.2 Las nuevas infecciones por el VIH están lejos del ritmo necesario para alcanzar el objetivo 2020 propuesto por ONUSIDA

Los esfuerzos mundiales para fortalecer los programas de prevención y tratamiento del VIH están reduciendo la transmisión del VIH. Desde el 2010, el número anual de nuevas infecciones de VIH (incluyendo todos los rangos de edad) ha disminuido en un 16% a 1.8 millones (estimado 1.6 – 2.1 millones). Sin embargo, el ritmo de la disminución de nuevas infecciones por VIH es demasiado lento para alcanzar el objetivo acordado por la Asamblea General de las Naciones Unidas en 2016 (menos de 500 mil nuevas infecciones por año para el 2020) (Figura 3). El ritmo del declive varió según el grupo de edad y entre hombres y mujeres. Entre los niños, las nuevas infecciones han disminuido un 47% desde el año 2010, mientras que la cobertura de medicamentos antirretrovirales administrado a mujeres embarazadas que viven con VIH para evitar la transmisión a sus hijos aumentó del 47% (estimado 38-55%) al 76% (estimado 60-88%) en el mismo periodo. Las diferencias en el número de nuevas infecciones por VIH entre hombres y mujeres son más pronunciadas a edades más tempranas: en 2016, las nuevas infecciones entre mujeres jóvenes (15-24 años) fueron 44% más altas que entre los hombres del mismo grupo de edad. Desde el año 2010, las nuevas infecciones entre las mujeres jóvenes de todo el mundo (15-24 años) han disminuido en un 17%, alcanzando 360 mil (estimado 210-470 mil) en 2016. Las nuevas infecciones también disminuyeron entre los hombres jóvenes (15-24 años), cayendo en un 16% a 250 mil (estimado 110-320 mil) en 2016.

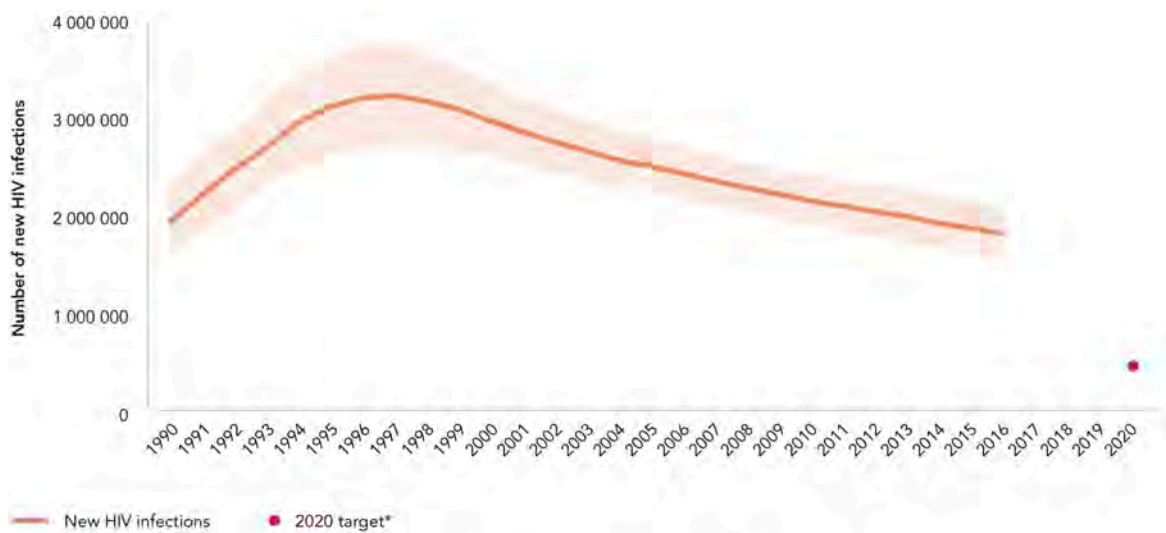


Figura 3. La reducción de nuevas infecciones por VIH está lejos del objetivo 2020 propuesto por ONUSIDA.

Se muestra el número de nuevas infecciones por VIH a nivel mundial para todos los rangos de edad desde 1990 al 2016. El punto rojo muestra el objetivo 2020 propuesta por ONUSIDA (menos de 500 mil nuevas infecciones). Fuente: estimados de UNAIDS 2017 (www.unaids.org).

2.1.3 Poblaciones con mayor riesgo de infección por VIH

En entornos de alta prevalencia, las mujeres jóvenes siguen teniendo un riesgo inaceptablemente alto de infección por el VIH. En África oriental y del sur, por ejemplo, las mujeres jóvenes (15-24 años) representaron el 26% de las nuevas infecciones por VIH en 2016 a pesar de representar sólo el 10% de la población. Las mujeres jóvenes en África occidental y central y el Caribe, representaron el 22% y el 17% de las nuevas infecciones por VIH en 2016, respectivamente. En entornos de prevalencia más baja, la mayoría de las nuevas infecciones por el VIH ocurren en poblaciones clave: personas que se inyectan drogas, trabajadoras y trabajadores del sexo, personas transgénero, presos, hombres homosexuales y hombres que tienen sexo con hombres (HSH o *MSM*, por sus siglas en inglés) y sus parejas sexuales. Fuera de África subsahariana, las poblaciones clave y sus parejas sexuales representaron el 80% de las nuevas infecciones por VIH en 2015. Incluso en el África subsahariana, las poblaciones clave y sus parejas sexuales son una parte importante de la epidemia de VIH, por ejemplo, en 2015, 25% de las nuevas infecciones ocurrieron en estos grupos, lo que subraya la importancia de llegar a ellos con servicios clínicos. A nivel mundial, los hombres homosexuales y los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) representaron el 12% de las nuevas infecciones en 2015, mientras que los trabajadores (ambos géneros) sexuales y las personas que se inyectan drogas representaron el 5% y el 8% de las nuevas infecciones, respectivamente. Además, los datos informados por los países de todo el mundo muestran que la prevalencia del VIH entre las poblaciones clave a menudo es considerablemente más alta de lo que es entre la población general.

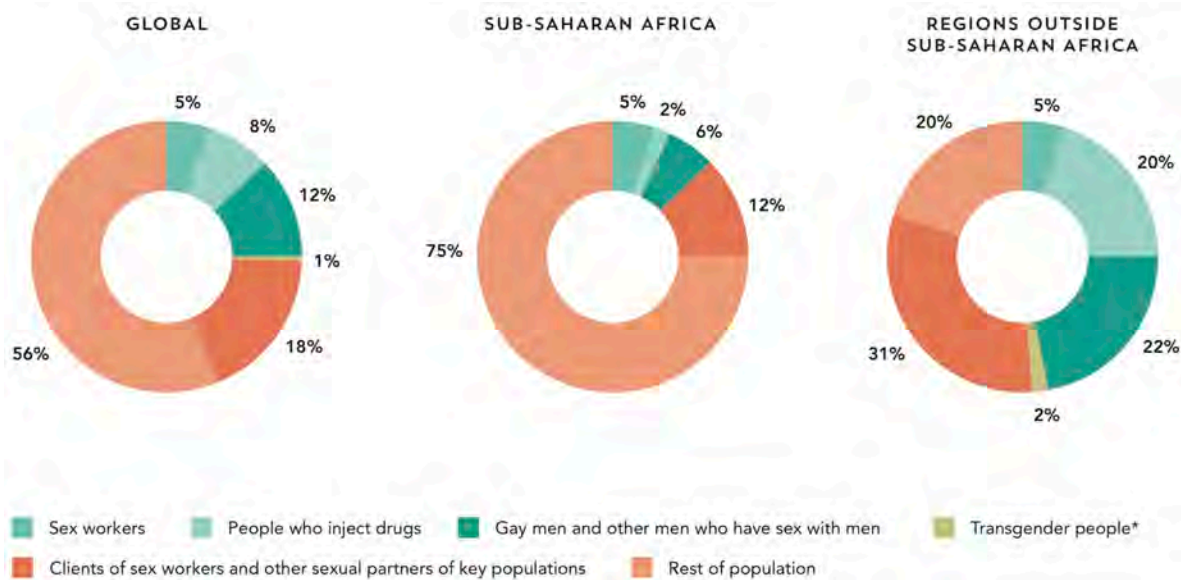


Figura 4. Las poblaciones clave son importantes en todas las epidemias de VIH (prevalencia alta y baja).

Se muestra la distribución de las nuevas infecciones por VIH estratificadas por población: mundial, África subsahariana (prevalencia de VIH alta) y regiones fuera de África subsahariana (prevalencia de VIH baja) durante el año 2015. Fuente: estimados de UNAIDS 2017 (www.unaids.org).

2.2 La epidemia del VIH/SIDA en Latinoamérica y Mesoamérica

El VIH/SIDA en Latinoamérica tiene características únicas que plantean problemas específicos de la región para el establecimiento de programas de prevención, tratamiento y atención médica¹⁵. En particular, la discriminación y el estigma continúan siendo un obstáculo importante para el manejo de la epidemia de VIH. El VIH/SIDA en Latinoamérica se caracteriza por una epidemia centrada en grupos clave o de mayor riesgo, incluyendo a hombres que tiene sexo con hombres (HSH), trabajadoras y trabajadores sexuales, usuarios de drogas intravenosas y migrantes¹. Sin embargo, se ha observado un aumento en la transmisión heterosexual del virus en varios países de la región¹⁶. Los esfuerzos de prevención, incluyendo campañas de educación, son en general desorganizados y cuentan con poco apoyo debido a que los presupuestos se dirigen principalmente al tratamiento antirretroviral (TAR)¹⁷. Aunque los gobiernos de la mayoría de los países latinoamericanos han hecho esfuerzos para garantizar el acceso al TAR a las personas infectadas por VIH que lo requieren, puntos como el acceso a y calidad de la atención médica, la detección oportuna, la prevención y el monitoreo clínico de los pacientes en tratamiento aún están lejos de ser adecuados^{18,19}. La falta de monitoreo de los pacientes lleva a la aparición de resistencia y a la disminución de la eficacia del TAR, que van de la mano con el requerimiento de esquemas de tratamiento secundarios con fármacos antirretrovirales de mayor costo. Asimismo, el problema se complica por la falta de detección temprana, característica de la mayoría de los países latinoamericanos, con la mayoría de las personas buscando tratamiento hasta la etapa sintomática de la infección^{17,18}.

Según el último reporte de la epidemia de VIH/SIDA reportado en diciembre del 2017¹: en 2016, 1.8 millones (estimado 1.4-2.1 millones) de personas vivían con VIH en Latinoamérica. En el mismo año, se produjeron en la región aproximadamente 97,000 (estimado 79,000-120,000) nuevas infecciones por el VIH. El número de nuevas infecciones por el VIH no varió de 2010 a 2016. En la región, 36,000 (estimado 28-45 mil) personas fallecieron a causa de enfermedades relacionadas con el VIH/SIDA en 2016. Entre 2010 y 2016, el número de muertes relacionadas con el VIH experimentó un descenso del 12%. La cobertura del tratamiento en 2016 llegó al 58% (42-72%) de todas las personas que vivían con VIH en la región. En 2016, en la región se produjeron 1,800 (1,300-2,400) nuevas infecciones por el VIH en niños.

En la región que comprende a México y los países de Centroamérica (en este trabajo doctoral considerados como la región de Mesoamérica), el VIH puede considerarse una epidemia concentrada que se caracteriza por una prevalencia relativamente baja en la población general (desde 0.03 en Nicaragua a 0.75 en Belice, Tabla 1). Es un tema preocupante, que de México, Belice y El Salvador no se tiene un estimado de las personas que viven con VIH con conocimiento de su estatus serológico (primer 90 de la cascada de atención). A pesar de los esfuerzos del sistema de los países Mesoamericanos, el escalamiento del tratamiento antirretroviral (TAR) ha alcanzado desde un 32% en Belice a un 60% en México de los individuos que viven con VIH y lo requieren. Como se mencionó antes, en esta región el monitoreo y seguimiento clínico de las personas bajo TAR es deficiente lo que conlleva a la ineficacia del mismo, que da como resultado que un bajo porcentaje (22-50%) de los individuos bajo TAR lleguen a niveles indetectables de CVp.

Tabla 1. Estadísticas de prevalencia de VIH y cascada 90-90-90 en Mesoamérica

| País | Personas que viven con VIH, 2016 | Incidencia de VIH por cada 1000 habitantes, 2016 | Nuevas infecciones por VIH, 2016 | Cascada de atención 90-90-90 | | |
|--------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|---|
| | | | | Personas VIH+ que saben su status | Personas VIH+ bajo TAR | Personas VIH+ bajo TAR con CVp indetectable |
| México | 220,000 (200,000-240,000) | 0.10 (0.09-0.11) | 12,000 (11,000-14,000) | --- | 60% (48-69%) | 50% (40-58%) |
| Guatemala | 46,000 (31,000-65,000) | 0.18 (0.09-0.32) | 2,900 (1,400-5,200) | 65% (43-90%) | 36% (24-50%) | 25% (17-35%) |
| Belice | 4,300 (3,400-5,200) | 0.75 (0.51-1.1) | <500 (<200-<500) | --- | 32% (26-39%) | 22% (18-27%) |
| El Salvador | 24,000 (22,000-26,000) | 0.16 (0.15-0.18) | <1000 (<1000-1000) | --- | 48% (44-54%) | 40% (37-45%) |
| Honduras | 21,000 (17,000-27,000) | 0.11 (0.07-0.17) | <1000 (<1000-1400) | 61% (43-78%) | 51% (36-65%) | 39% (28-50%) |
| Nicaragua | 8,900 (6,800-12,000) | 0.06 (0.04-0.11) | <500 (<500-<1000) | 85% (57%->95%) | 43% (29-63%) | 25% (17-37%) |
| Panamá | 21,000 (19,000-23,000) | 0.34 (0.3-0.37) | 1,300 (1,100-1,400) | 75% (68-83%) | 54% (49-60%) | --- |

Datos obtenidos del reporte 2017 de UNAIDS¹.

2.3 Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

2.3.1 Introducción y origen

La epidemia de VIH surgió después de las infecciones zoonóticas del virus de la inmunodeficiencia simiana (VIS o SIV, por sus siglas en inglés). Los cazadores de carne de animales silvestres fueron probablemente el primer grupo infectado con el VIH²⁰. Existen 4 grupos del VIH-1 y representan tres eventos de transmisión separados de los chimpancés (grupos M, N y O) y uno de los gorilas (grupo P) (Figura 5). Los grupos N, O y P están restringidos al oeste de África. El grupo M, que es la causa de la pandemia mundial de VIH, comenzó hace unos 100 años y consta de nueve subtipos: A-D, F-H, J y K. El subtipo C predomina en África y la India, y representa el 48% de los casos de VIH-1 en el 2007 en el mundo²¹. El subtipo B predomina en Europa occidental, América y Australia (Figura 6). Los subtipos recombinantes son cada vez más comunes²¹. La marcada diversidad genética del VIH-1 es una consecuencia de la función propensa a errores de la transcriptasa inversa (RT), que da como resultado una alta tasa de mutación. El VIH-2 se limita principalmente al oeste de África y causa una enfermedad similar al VIH-1, pero la inmunodeficiencia progresa más lentamente y el VIH-2 es menos transmisible.

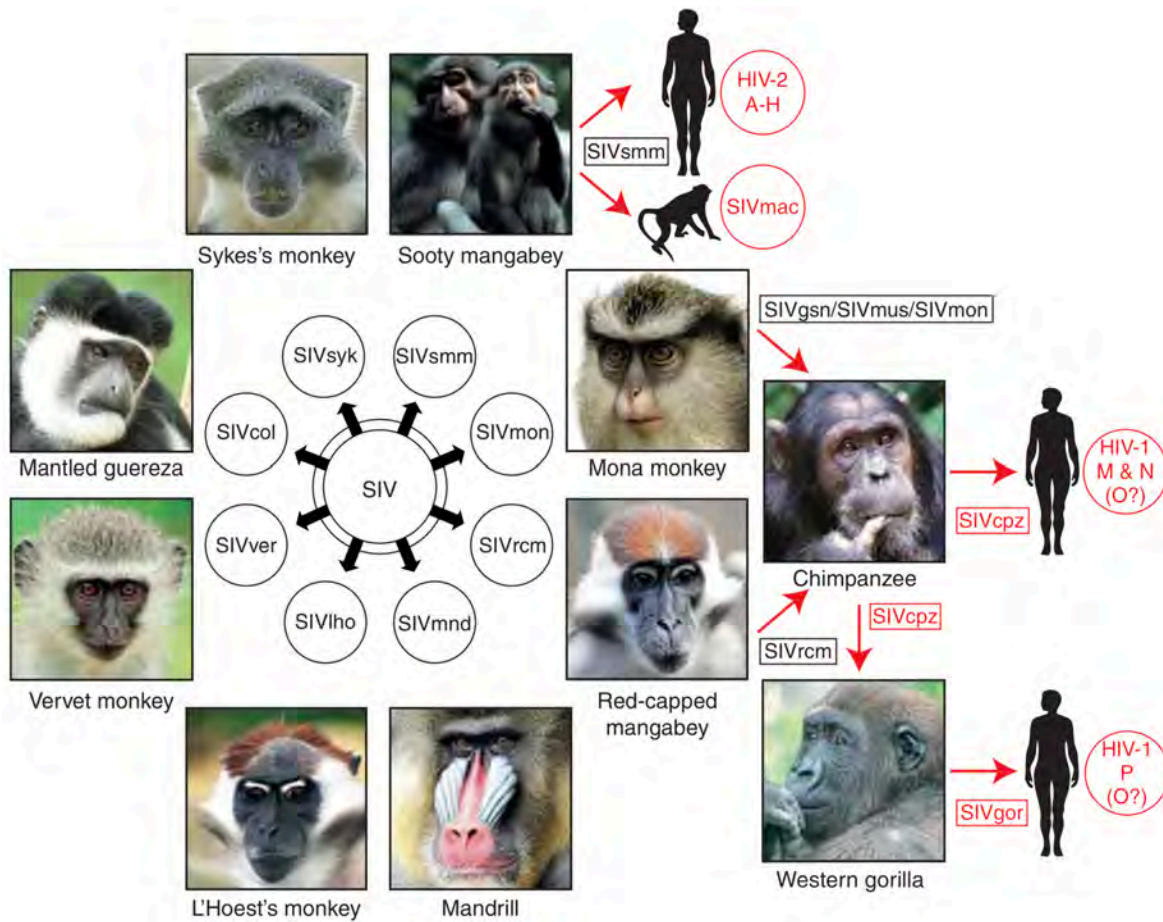


Figura 5. Origen de los virus del SIDA.

Los monos del Viejo Mundo se infectan naturalmente con más de 40 lentivirus, denominados virus de la inmunodeficiencia simiana (VIS o SIV, por sus siglas en inglés) con un sufijo para indicar su especie de origen de los primates (por ejemplo, SIVsmm del Sooty mangabeys o SIVcpz del chimpancé). Algunos de estos SIV han cruzado la barrera de las especies de los grandes simios a los humanos, generando nuevos patógenos. Los ejemplos conocidos de transmisiones zoonóticas entre especies, así como los virus resultantes, se resaltan en rojo. Tomada de la referencia²⁰.

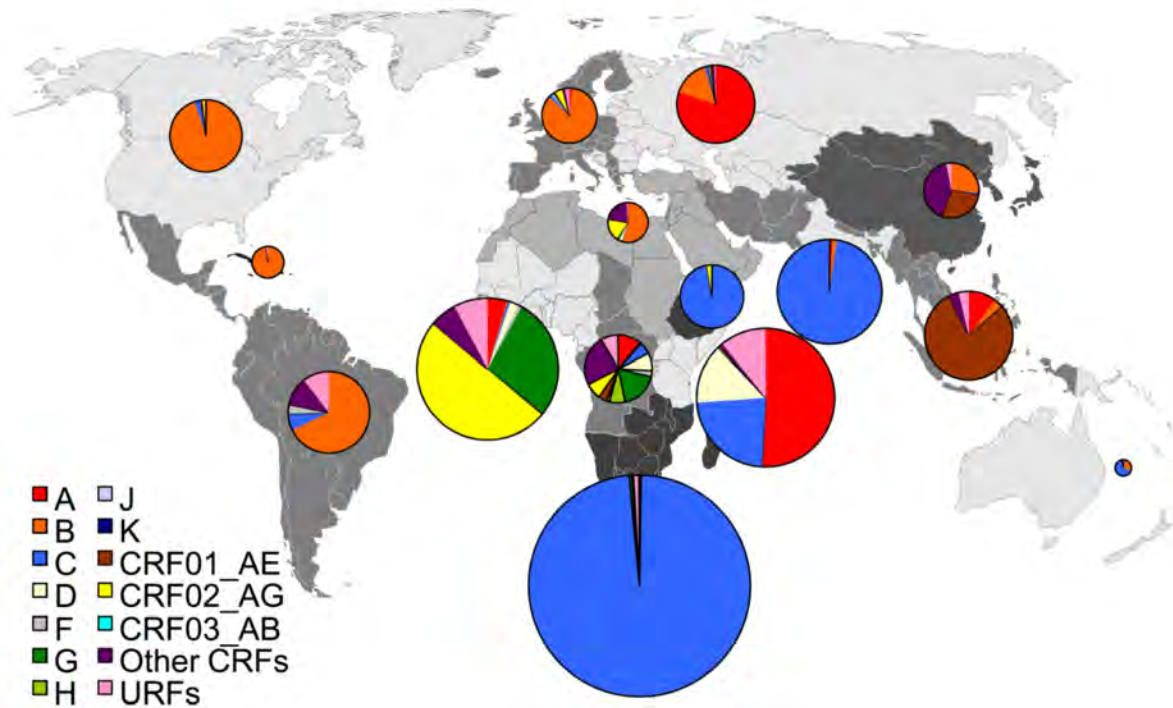


Figura 6. Distribución regional de los subtipos de VIH-1 y sus recombinantes.

Se muestran la distribución regional de los subtipos de VIH del 2004 al 2007. El mundo se dividió en 15 regiones. Los países que forman una región están sombreados con el mismo color. Los gráficos de pastel representan la distribución de subtipos de VIH-1 y sus recombinantes en cada región. Las áreas relativas de los gráficos de pastel corresponden a los números relativos de personas que viven con VIH en las regiones. Figura tomada y modificada de la referencia²¹.

Hace más de treinta años que se identificó al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) como el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El blanco principal del VIH son las células que expresan en la superficie la molécula CD4, incluyendo a los linfocitos T y sus precursores. El VIH también es capaz de infectar monocitos, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas y de la microglia en el sistema nervioso central^{22,23}. La infección por el VIH en ausencia de TAR provoca un deterioro progresivo del sistema inmune y finalmente las manifestaciones clínicas del SIDA.

La primera evidencia de que el SIDA es causado por un retrovirus surgió en 1983, cuando Barré-Sinoussi, Cherman y Montaigner en el Instituto Pasteur (París, Francia), recuperaron un virus que contenía una enzima llamada transcriptasa inversa de un ganglio linfático de un hombre con linfadenopatía persistente (1983)²². Levy y sus colaboradores confirmaron este hallazgo al describir un retrovirus asociado al SIDA en 1984²⁴. Fue hasta el año 1986 que el Comité Internacional para la Taxonomía de Virus recomendó dar el nombre al agente causal del SIDA como Virus de la Inmunodeficiencia Humana o VIH²⁵.

La propagación y replicación persistente del VIH conduce a una inmunodeficiencia grave ocasionada por una reducción gradual del número de linfocitos T CD4+. Esto resulta en la aparición de múltiples infecciones

oportunistas y tumores malignos²⁶. La gravedad de la enfermedad está determinada por el balance entre la virulencia del virus y la resistencia del hospedero²⁷.

En la mayoría de los casos, durante las primeras seis semanas después de la infección, los individuos desarrollan un síndrome agudo, caracterizado por valores altos de viremia (o alta carga viral de VIH, CVp) en sangre periférica y síntomas parecidos a un fuerte resfriado²⁸. Posteriormente se monta una respuesta inmune celular específica (linfocitos T CD8 citotóxicos) contra el VIH que provoca un descenso importante en la viremia de sangre periférica^{29,30}. A continuación, los individuos entran en una etapa asintomática clínicamente estable que, dependiendo de factores inmunológicos, virológicos y genéticos, puede durar un número variable de años. En esta etapa las concentraciones del virus en la sangre periférica son relativamente bajas, sin embargo, la replicación del virus e infección de los linfocitos T CD4+ son procesos dinámicos, que son equilibrados por una tasa igualmente dinámica de depuración viral, muerte de células infectadas y abastecimiento de nuevas CD4+, este equilibrio mantiene niveles plasmáticos relativamente estables de viremia y de CD4. Sin embargo, esta viremia plasmática reducida pero persistente provoca la reducción gradual de linfocitos T CD4+, que invariablemente, en poco o mucho tiempo, conduce a SIDA.

2.3.2 Transmisión del VIH

El factor más importante que aumenta el riesgo de transmisión sexual del VIH-1 es el número de copias por mililitro de RNA del VIH-1 en plasma (carga viral en plasma o CVp), con un riesgo en la transmisión sexual de 2.4 veces más por cada logaritmo₁₀ de aumento en la CVp³¹. La infección aguda por VIH, que causa CVp muy altas en los primeros meses, es un importante impulsora de la epidemia de VIH³². Se estima que una reducción en la CVp de 0.7 log₁₀ reduce la transmisión del VIH-1 en un 50%³³. La carga viral en líquido seminal y endocervical predice de forma independiente el riesgo de transmisión sexual del VIH-1 (después del ajuste para la CVp)³⁴. Otros factores asociados con un mayor riesgo de transmisión sexual del VIH incluyen infecciones de transmisión sexual (especialmente úlceras causadas por cualquier patógeno, infecciones de herpes simplex tipo 2 y vaginosis bacteriana³⁵⁻³⁷), el embarazo³⁸ y las relaciones anales receptivas³⁹. La circuncisión masculina ha sido asociada con un riesgo reducido de transmisión sexual⁴⁰. Los hallazgos de algunos estudios observacionales mostraron un mayor riesgo de adquisición del VIH en mujeres que usaron hormonas anticonceptivas inyectadas de larga duración, pero no anticonceptivos orales combinados²⁶. Los factores conductuales que aumentan la transmisión sexual del VIH-1 incluyen el tener muchas parejas sexuales y parejas simultáneas^{41,42}. La desigualdad sexual es un factor importante de la epidemia del VIH, especialmente en África subsahariana, donde las mujeres representan el 57% de las personas que viven con VIH¹. El uso de drogas inyectables y no inyectables, incluido

el alcohol, están asociados con un mayor comportamiento de riesgo sexual, mientras que el uso de drogas inyectables causa la transmisión del virus a través de agujas compartidas⁴³. Las mujeres que informaron violencia sexual tuvieron una mayor incidencia de infección por VIH en un estudio en Sudáfrica⁴⁴. ONUSIDA identificó al estigma y la discriminación contra el VIH y las leyes punitivas contra los grupos de alto riesgo (por ejemplo, hombres que tienen sexo con hombres, personas que se inyectan drogas y trabajadores sexuales) como barreras para que las personas se sometan a las pruebas de detección del VIH, accedan a la atención y seguridad social, y acceso a las medidas de prevención¹.

2.3.3 Clasificación taxonómica y estructura

El VIH es miembro de la familia Retroviridae perteneciente al género Lentivirus⁴⁵. Los retrovirus tienen las siguientes características: a) un genoma de RNA; b) una estructura viral organizada por tres genes poliprotéicos llamados grupo antígeno específico (*gag*), polimerasa (*pol*) y envoltura (*env*); c) un ciclo de replicación en donde se incorpora el genoma viral dentro del material genético del hospedero mediante una transcripción inversa y una integrasa; d) y un genoma altamente variable como resultado de una alta tasa de mutación, dinámica de replicación notable y recombinación lo que causa que se puedan seleccionar aquellas variantes o cuasiespecies con la mejor adecuación (fitness viral) dada la presión selectiva del hospedero. Los lentivirus además de los genes estructurales de los retrovirus, se caracterizan por presentar una compleja combinación de genes accesorios o genes no estructurales y de tener largos periodos de latencia clínica⁴⁶.

El VIH es un virus envuelto (dado que gema de la membrana de la célula infectada). La partícula viral mide 110nm de diámetro. Posee cerca de 72 espículas en su superficie, cada espícula consta de 6 glicoproteínas (3 gp41 y 3 gp120)⁴⁷. Estas glicoproteínas se derivan de un solo precursor (gp160) codificado en el gen *env*. La proteína transmembranal gp41 es una molécula que interactúa no covalentemente con la glicoproteína gp120, formando así una estructura oligomérica de carácter trimérico (Figura 7).

La forma y la integridad del virión está dada por los productos del gen *gag*. La matriz está compuesta por la proteína p17, la cual está sujeta a la cara interna de la membrana lipídica. Una segunda proteína de *gag* llamada p24 genera la forma cónica característica de la cápside. Dos proteínas más de *gag* llamadas p7 y p6 generan la nucleocápside en donde se encuentra el genoma viral, el cual está compuesto por dos cadenas simples positivas de RNA. La cápside contiene toda la información genética y las proteínas necesarias para la replicación viral, dentro de ella se encuentran dos copias de RNA genómico, un RNA de transferencia reclutado durante el proceso de liberación del virión y tres enzimas llamadas transcriptasa inversa (RT), integrasa (IN) y proteasa (IN),

codificadas en el gen *pol*⁴⁶ (Figura 7). En la Tabla 2 se resume las funciones de las proteínas virales (estructurales y accesorios).

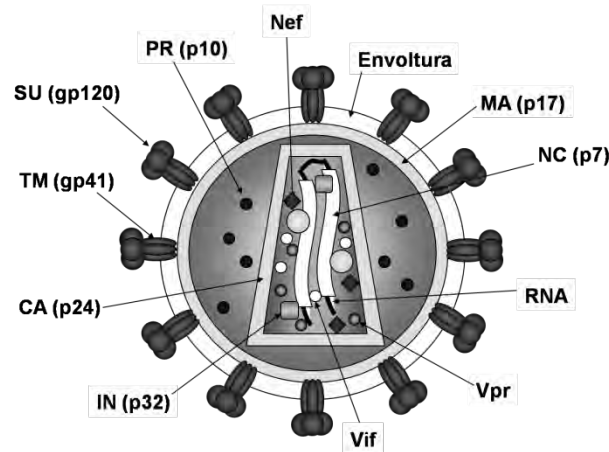


Figura 7. Estructura del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

El VIH es un virus envuelto en una membrana lipídica. La glicoproteína transmembranal gp41 interactúa no covalentemente con la glicoproteína gp120 en la superficie del virión. La matriz está compuesta por la proteína p17 de gag. p24 genera la forma cónica característica de la cápside. p7 y p6 generan la nucleocápside en donde se encuentra el genoma viral, el cual está compuesto por dos cadenas simples positivas de RNA. En la cápside se encuentran el genoma viral (2 copias de RNA) y las proteínas necesarias para la replicación viral (RT, IN y PR), además contiene un RNA de transferencia reclutado durante el proceso de liberación del virión. El virión puede contener proteínas de superficie como el receptor CD4, moléculas HLA clase I y II, entre otros. Tomada y modificada de la referencia⁴⁶.

Tabla 2. Proteínas del VIH y sus funciones.

| Proteína | Función |
|------------|--|
| Gag | Poliproteína procesada por proteasa (PR). Proteínas de matriz (MA ó p17), proteínas de cápside (CA ó p24), proteínas de nucleocápside (NC ó p7) y p6. |
| Pol | Enzimas: proteasa (p10 ó PR), transcriptasa inversa (RT) y la RNAsa H (p66/51) e integrasa (IN ó p32). Todas procesadas por PR. |
| Env | Proteína de envoltura gp160. Proteínas de envoltura: gp41 y gp120 que interactúan con CD4 y CCR5/CCXC4 de la célula. Intervienen en la infección viral; contiene RRE en donde se une Rev. |
| Vif | Factor viral infeccioso. Reduce los efectos inhibitorios de factores celulares, dando lugar a complejos de RT más estables; regula la capacidad de infección de las partículas virales. Provoca degradación proteosomal de APOBEC3G, factor intracelular restrictivo hacia el VIH. |
| Vpr | Proteína viral R (p15). Favorece la infección de macrófagos y la importación del genoma viral al núcleo. Arresta el ciclo celular en G ₂ . |
| Tat | Activador transcripcional (p14), necesario para la elongación de la transcripción viral (en presencia de CK1 y Cdk9). Contiene sitio de unión a TAR. |
| Rev | Proteína (p19) reguladora de la expresión de genes virales, favorece la salida del núcleo de transcritos de RNA no procesados o con procesamiento sencillo (mediante unión a RRE). |
| Vpu | Proteína viral U, reduce la expresión de CD4 en la célula y participa en la liberación de viriones de la célula. |
| Nef | Factor negativo, reduce la expresión de CD4 en la célula, reduce la expresión de HLA de clase I; potencia la infectividad de los viriones; altera el estado de activación celular; el progreso a la enfermedad disminuye significativamente en la ausencia de Nef. |
| LTR | Integración del DNA viral en el genoma celular; contiene los sitios de unión a factores de transcripción (NFκB, NFAT, SP1 y TBP); se requiere para el inicio de la transcripción; contiene la secuencia TAR a la que se une Tat. |

Tomada y modificada de la referencia⁴⁸.

El genoma de RNA del virus tiene una longitud aproximada de 9.2Kb y una organización básica característica de todos los retrovirus conocidos (Figura 8). Los LTRs (long terminal repeats) son secuencias que se encuentran en

ambos extremos del genoma viral. Estas secuencias regular la integración del virus en el genoma del hospedero, la expresión de los genes y replicación viral.

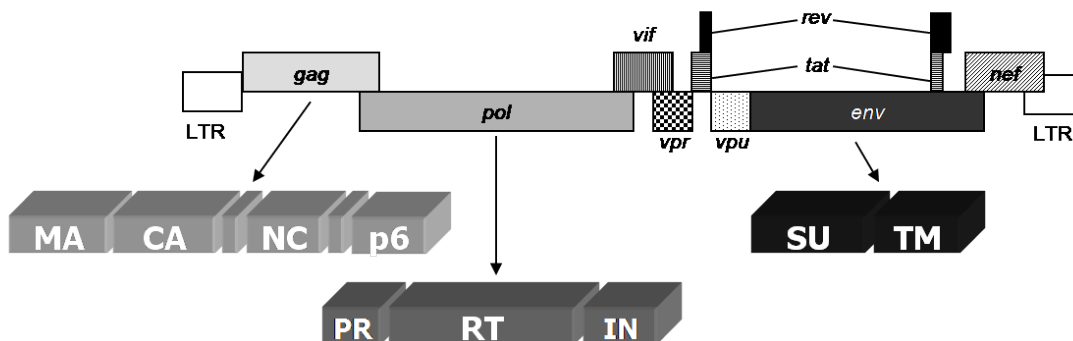


Figura 8. Estructura genómica del VIH.

Organización del genoma viral de ~9.2Kb en donde se observan los LTRs, los tres genes poliprotéicos (*gag*, *pol* y *env*) y las proteínas accesorias (*Vif*, *Vpr*, *Vpu*, *Rev*, *Tat*, *Nef*). Tomada y modificada de la referencia⁴⁶.

2.3.4 Ciclo de replicación del VIH

Al igual que otros virus, el VIH requiere infectar una célula para llevar a cabo su ciclo de replicación. El mecanismo de entrada a la célula comienza con el reconocimiento del receptor de membrana CD4 (del linfocito T CD4+, principal célula blanco del virus) por medio de la glicoproteína gp120. Esta unión provoca un cambio conformacional en el complejo gp120/gp41 exponiendo un sitio altamente conservado de gp120 de unión al correceptor celular. Este correceptor celular es un receptor de quimiocinas específico^{49,50}, CCR5 en macrófagos y CXCR4 en los linfocitos T. La unión de gp120 con el correceptor provoca un cambio conformacional que hace que la glicoproteína gp41 se exponga y se incruste en la membrana celular dando como resultado la fusión de las membranas, dejando entrar al virus al interior celular⁵⁰. El correceptor CCR5 es utilizado por virus macrofagotrópicos no inductores de sincicios (virus R5) y el correceptor CXCR4 se utiliza por virus linfotrópicos inductores de sincicios (virus X4). Los virus R5 están involucrados cuando la infección se da por mucosas y por vía intravenosa, mientras que los virus X4 se encuentran en etapas tardías de la enfermedad⁵¹.

Una vez fusionadas las membranas, el core viral se rompe vaciando su contenido (enzimas y genoma viral) en el citosol. Se cree que este proceso se da por la fosforilación de la matriz viral por MAP (*mitogen activated protein*) cinasas⁵², de ciclofilina A⁵³ y por la acción de las proteínas virales Vif⁵⁴ y Nef⁵⁵. La liberación de estos componentes da lugar al complejo de retro-transcripción, que comprende el genoma diploide de RNA, un iniciador (*primer*) de RNA de transferencia (tRNA_{Lisina}), RT, IN, MA, NC, Vpr y otras proteínas celulares. Este complejo de retro-transcripción se ancla a proteínas del citoesqueleto (microfilamentos de actina) mediado por

la fosforilación de la matriz viral, esto es necesario para la eficiente síntesis de DNA viral. Adicionalmente, Vif estabiliza el complejo inhibiendo proteínas celulares que tratan de desestabilizarla⁴⁷ (Figura 9).

Después de la retrotranscripción del genoma RNA a cDNA se forma el complejo de preintegración (PIC, por sus siglas en inglés, *preintegration complex*) que está compuesto por cDNA de doble cadena, IN, MA, Vpr, RT y el grupo de proteínas de unión a DNA de alta movilidad [HMGI(Y)] (Figura 9). El radio de este complejo se ha estimado en 28nm⁴⁸. Este complejo se transporta al núcleo con ayuda de los microtúbulos y se sitúa cerca de un poro nuclear. Una vez que el complejo de preintegración se encuentra anclado al núcleo se importa al interior del mismo. Se desconocen los mecanismos mediante los cuales se da este proceso, pero se sabe que las proteínas virales IN, MA y Vpr están involucradas. Se sabe que MA tiene una señal de localización nuclear (NLS, por sus siglas en inglés) que es reconocida por importinas nucleares de la célula.

Dentro del núcleo, el PIC puede tener 4 diferentes destinos, de los cuales sólo uno da lugar a la formación del provirus funcional (DNA viral competente para la replicación dado que está inserto en el genoma celular). Se cree que para que se dé un provirus funcional se necesitan las proteínas celulares HMGI y BAF. La integrasa remueve nucleótidos de los extremos de DNA viral, esta reacción de corte corrige los extremos desiguales generados por la RT. La integrasa también cataliza la subsiguiente reacción que une el DNA del VIH al cromosoma celular. Alternativamente, los otros tres destinos del DNA viral pueden ser: 1) los extremos del DNA viral pueden unirse formando un genoma circular con 2 LTRs, 2) el DNA viral puede sufrir recombinación homóloga y formar un genoma circular con un solo LTR, y 3) el DNA viral puede autointegrarse y formar un genoma circular rearrreglado. Ninguno de estas especies provirales produce viriones infecciosos, sin embargo, pueden formar transcriptos cortos para formar Tat y Nef⁵⁶ (Figura 9).

Los provirus pueden insertarse en muchos lugares dentro de los cromosomas celulares y cada una de las células puede tener más de un provirus inserto en su genoma. El lugar de integración proviral puede dar lugar a un provirus activo transcripcionalmente o a un provirus latente debido a su inserción en lugares muy compactos como la heterocromatina⁴⁸. Debido a que puede haber más de un provirus en el genoma celular es probable que algún provirus esté activo transcripcionalmente.

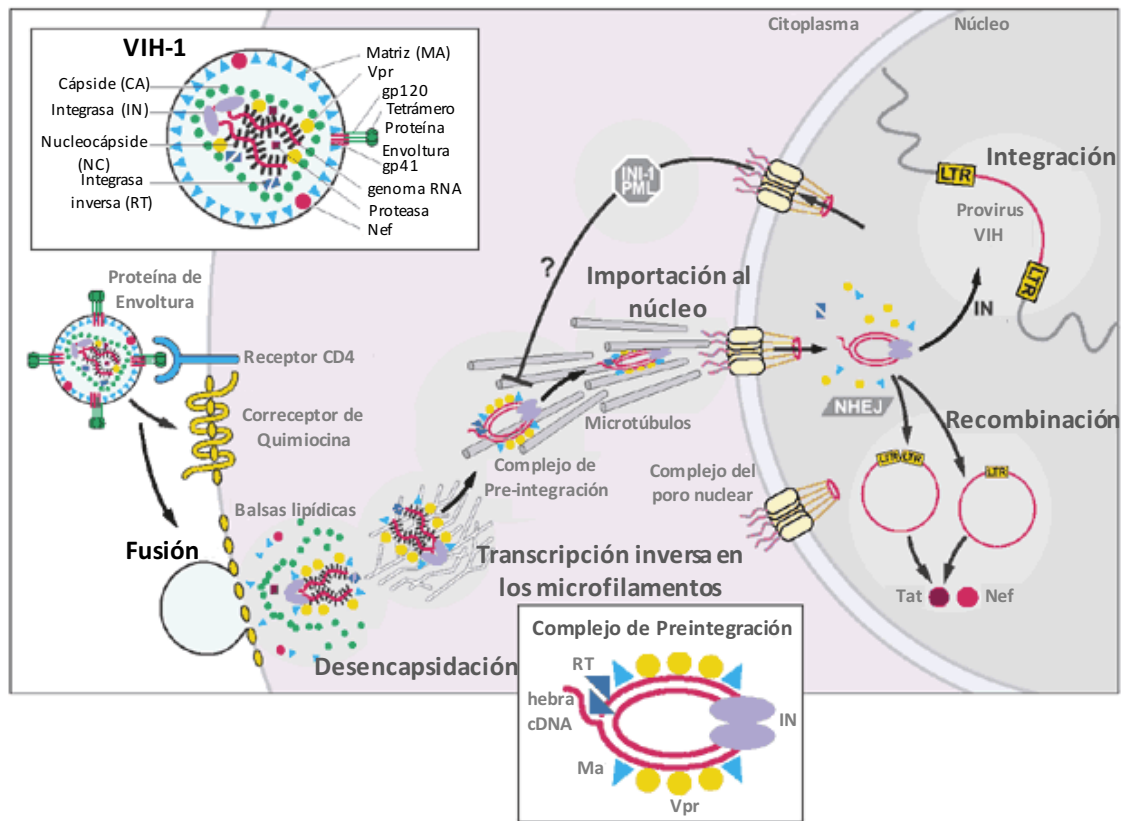


Figura 9. Eventos tempranos en el ciclo de replicación: fusión, retrotranscripción e integración.

Descripción esquemática de los eventos tempranos después de la infección por VIH de una célula susceptible: interacciones entre gp120, CD4 y el correceptor de quimiocinas (CCR5 o CXCR4) dando lugar a la fusión mediada por gp41; seguido del desencapsidamiento del virión; retrotranscripción del genoma de RNA; importación nuclear del complejo de preintegración; e integración del cDNA viral de cadena doble en el genoma celular estableciendo un provirus. Tomada y modificada de la referencia⁴⁸.

Uno de los mecanismos de latencia está dado justamente por el sitio de inserción en la cromatina del DNA viral. Sin embargo, la latencia no sólo está acotada por el sitio de inserción del provirus sino por falta de factores de transcripción celulares (dado el contexto de activación de la célula) o de proteínas virales.

Los LTRs 5' dentro del genoma celular funcionan como unidades de transcripción eucarióticas. Estas repeticiones contienen promotores "corriente abajo" y "corriente arriba" que incluyen al iniciador, la caja TATA y tres sitios SP1. Estas regiones ayudan a posicionar la RNA polimerasa tipo II (RNAPII) en el sitio de inicio de la transcripción, después de esto se forma el complejo de preiniciación. La transcripción inicia, pero la RNA polimerasa falla en la elongación de la transcripción a lo largo del genoma viral, formando transcritos cortos. Estos transcritos cortos son estables y pueden ser traducidos debido a que el RNA puede formar un asa en forma de tallo llamada elemento de respuesta de transactivación (TAR, por sus siglas en inglés, *transactivation response element*). Este elemento se une a Tat cuando esta proteína ya se ha traducido. Río arriba del promotor se encuentra un sitio potenciador de la transcripción en donde se unen factores de transcripción como el factor nuclear κB (NF κ B), el

factor nuclear de células T activadas (NFAT) y miembros de la familia Ets. NFκB y NFAT se encuentran en el núcleo celular cuando la célula se encuentra activada. NFκB mediante sus dos subunidades (p50 y p65) es capaz de aumentar la tasa de procesamiento de la RNA polimerasa dando lugar a transcripción viral completa⁵⁷.

Tat juega un papel primordial en la transcripción de los genes virales. Esta proteína viral en asociación con ciclina T1 se une a TAR (en el transcrito en formación) y recluta a una cinasa llamada Cdk9 (cinasa 9 dependiente de ciclina)⁵⁸. Todo este complejo es llamado P-TEFb (transcription-elongation factor b complex). Cdk9 del complejo P-TEFb fosforila el dominio carboxilo terminal de la RNA polimerasa II aumentando su capacidad de procesamiento y permitiendo la formación de transcritos más largos. Otras proteínas blanco del complejo P-TEFb son los factores negativos de la transcripción-elongación (N-TEFs) como DSIF (DRB-sensitivity inducing factor) y NELFs (negative elongation factors)⁵⁹.

Durante la transcripción del genoma viral se forman más de una docena de transcritos⁴⁸. Algunos de ellos son procesados por corte y empalme (*splicing*) en el momento de su formación y son rápidamente transportados al citoplasma. Los mRNA virales multiprocesados codifican para Nef, Tat y Rev. Los otros mRNA sencillamente procesados o sin procesar se quedan en el interior del núcleo, estos transcritos codifican para la estructura, las enzimas accesorias y el genoma de RNA del virus, y son indispensables para el ensamble de viriones infecciosos (Figura 10).

El transporte de estos mRNA depende de la producción de cantidades umbrales de Rev. Rev es una pequeña proteína transportadora que se une a asas en forma de tallo en los mRNA, en específico a una secuencia dentro del gen *env* llamada RRE (Rev response element). Esta unión da lugar a la multimerización de muchas moléculas de Rev alrededor de RRE. Esta proteína acarreadora contiene un sitio de localización nuclear (NLS) y una secuencia de exportación nuclear rica en leucinas (NES) que le permiten atravesar la membrana nuclear transportando los transcritos largos hacia el citoplasma celular. Este proceso es dependiente de energía debido a la participación del factor celular RanGTP⁴⁸. Para que la formación de viriones se lleve a cabo eficientemente, se necesita que exista un balance entre el procesamiento de transcritos y su transporte hacia el citoplasma. Si el procesamiento de transcritos es muy eficiente, sólo los transcritos multiprocesados son transportados al citoplasma. Sin embargo, estos transcritos son insuficientes para que se lleve a cabo la replicación viral. Por otro lado, si el procesamiento de transcritos no es eficiente no se pueden sintetizar las cantidades suficientes de Tat, Rev y Nef, proteínas esenciales para la eficiente transcripción de los mRNA, transporte de los mismos y desregulación del contexto celular para mejorar la infectividad de los viriones (Figura 10).

En contraste con Tat y Rev que actúan directamente sobre los transcritos de RNA, Nef modifica el contexto de la célula infectada para optimizar la replicación viral⁵⁰. La ausencia de esta proteína está asociada a lenta

progresión a SIDA en humanos⁶⁰ y monos⁶¹. Esta función parece estar asociada a la habilidad de Nef de desregular cascadas de señalización como la de la activación asociada al receptor de células T (TCR) y de disminuir la expresión de CD4 en la superficie celular. Nef también promueve la producción y la salida de viriones más virulentos^{62,63}; puede afectar la vía de señalización de PI3-K, causando rearrreglos importantes en el citoesqueleto y evitando sus funciones efectoras; tiene la capacidad de regular negativamente la expresión del receptor CD4 desde su presencia en el retículo endoplásmico; así como de activar la expresión de FasL, el cual induce apoptosis en las células no infectadas que expresan Fas. Al mismo tiempo, Nef bloquea la apoptosis de las células infectadas mediante la regulación de la cinasa-1 (vía de apoptosis por Fas y TNFR) y por la fosforilación de la proteína inducida por virus Bad. Nef inhibe la apoptosis uniéndose a p53 e inhibiendo su función⁶⁴ (Figura 10). Mediante todos estos mecanismos, Nef prolonga la vida de las células infectadas optimizando la replicación viral.

Una función notoria de Nef es su capacidad de disminuir la expresión de las moléculas HLA en la superficie celular. Esta actividad reduce la visibilidad inmunológica de las células infectadas para ser localizadas y destruidas por los linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTLs, por sus siglas en inglés). Sin embargo, Nef no puede disminuir la expresión de las moléculas *HLA-C*⁶⁵, por lo que las células infectadas pueden ser reconocidas por células NK.

Otras proteínas virales también participan en la modificación del contexto celular de las células infectadas. Un ejemplo es Vpr, que induce el arresto de las células infectadas en proliferación en fase G2/M del ciclo celular⁶⁶. Debido a que el LTR es mucho más activo durante G2, este arresto por Vpr potencia la expresión de genes del virus⁶⁷ (Figura 10).

Todos los componentes del virión son ensamblados momentos antes de que la gemación del virión ocurra, esto sucede justo debajo de la membrana. Este proceso es dirigido por las poliproteínas Gag-Pol, Gag y Env y requiere del reclutamiento de dos copias del genoma de RNA, así como de Vpr⁶⁸. La formación de la cápside del virión inmaduro requiere del ensamble de aproximadamente 1500 poliproteínas de Gag⁶⁹, en este proceso participa una proteína chaperona llamada HP68⁷⁰. Finalmente, la gemación de los viriones ocurre en regiones ricas en colesterol, esta composición lipídica favorece la liberación, estabilidad y fusión de los viriones con las células blanco (Figura 10).

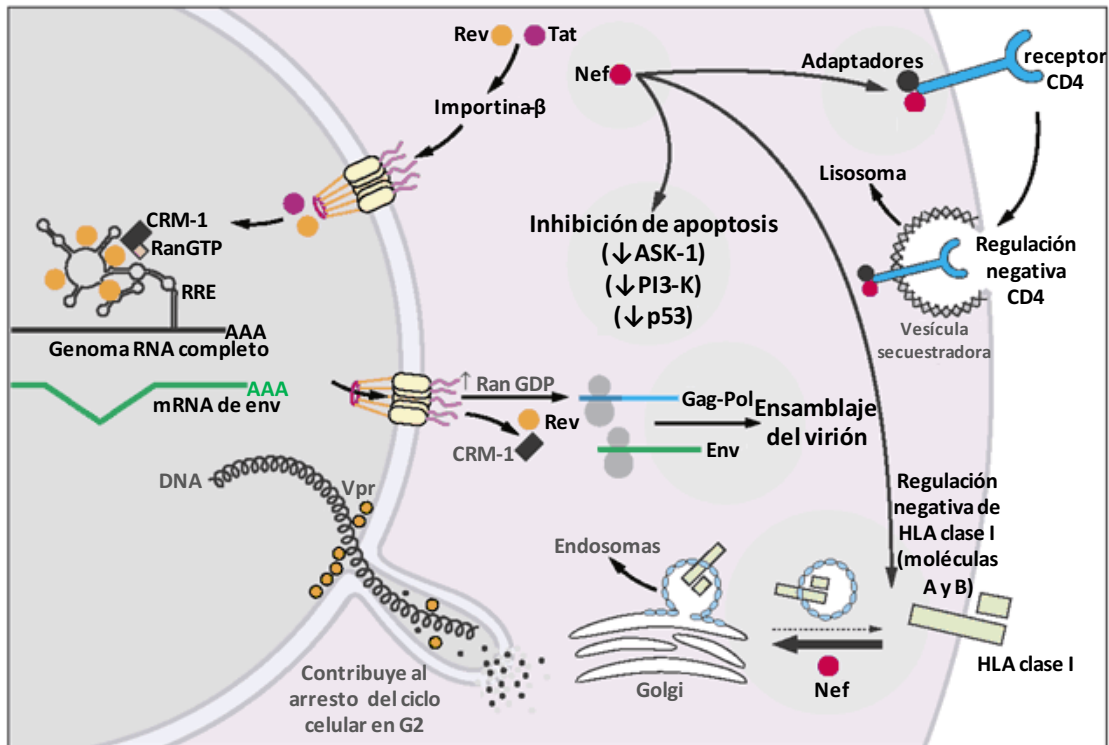


Figura 10. Eventos tardíos en el ciclo de replicación: transcripción, traducción y gemación viral.

Resumen de los eventos tardíos en una célula infectada que culminan en la gemación de nuevos viriones. Se destaca el papel de las proteínas virales en la optimización del contexto celular para la replicación viral: regulación negativa de CD4 y de HLA clase I; inhibición de la apoptosis por Nef; y arresto en G2 del ciclo celular por Vpr. También se muestra el papel de Rev que promueve la exportación de transcritos largos que codifican para enzimas, así como el genoma viral que se integrará a los nuevos viriones. Tomada y modificada de la referencia⁴⁸.

2.3.5 Historia natural de la enfermedad por VIH

Durante la infección por el VIH se distinguen diversas fases o etapas, inducidas por la interacción entre el virus y la respuesta inmune del hospedero⁷¹. La historia natural de la enfermedad se divide en las siguientes etapas sucesivas. Etapa de infección primaria o aguda, caracterizada por concentraciones de conteos de CD4+ mayores a 500/ μ l. Etapa crónica o de latencia clínica, con concentraciones entre 200 a 500 células T CD4+/ μ l. Etapa tardía donde los pacientes presentan concentraciones por debajo de 200 y hasta 50 células T CD4+/ μ l. Finalmente la etapa avanzada caracterizada por concentraciones por debajo de 50 células T CD4+/ μ l (Figura 11).

En la etapa de infección primaria y pocos días después de la infección, la viremia se detecta en plasma alcanzando valores elevados. Al mismo tiempo ocurre una notable reducción de las células T CD4+ en circulación; pero no es tan acentuada como sucede en las mucosas. Clínicamente los síntomas son inespecíficos y con estado de gravedad variable²⁸. Sin embargo, en un período de tiempo en general corto, ocurre una contra-regulación de los niveles de replicación viral que disminuye considerablemente la viremia y aumentan los niveles circulantes de células T CD4+ (aunque pocas veces a los niveles de referencia), con lo que se resuelve el cuadro

clínico⁷². Esto sugiere que se desarrolla una eficiente respuesta inmune, como sucede en otras infecciones virales, durante el período de infección aguda, que es capaz de contener momentánea y parcialmente la infección⁷³. El descenso en la viremia puede observarse durante los primeros 4 meses de infección, hasta llegar a lo que se conoce como el punto de equilibrio (*set point*) de la carga viral (Figura 11), que varía de persona a persona (debido a que se establece en gran parte por las respuestas inmunes innata y adaptativa). El nivel del punto de equilibrio (*set point*) determina el pronóstico del curso de la enfermedad. A menor *set point* viral, menor el tiempo de evolución a SIDA y muerte^{74,75}. La etapa intermedia se caracteriza por niveles bajos o moderados de viremia (CVp) en sangre. Sin embargo, a partir de ese momento se observa un incremento gradual de la carga viral y disminución progresiva del número de las cT CD4+. Esta relación determina la progresión de la enfermedad.

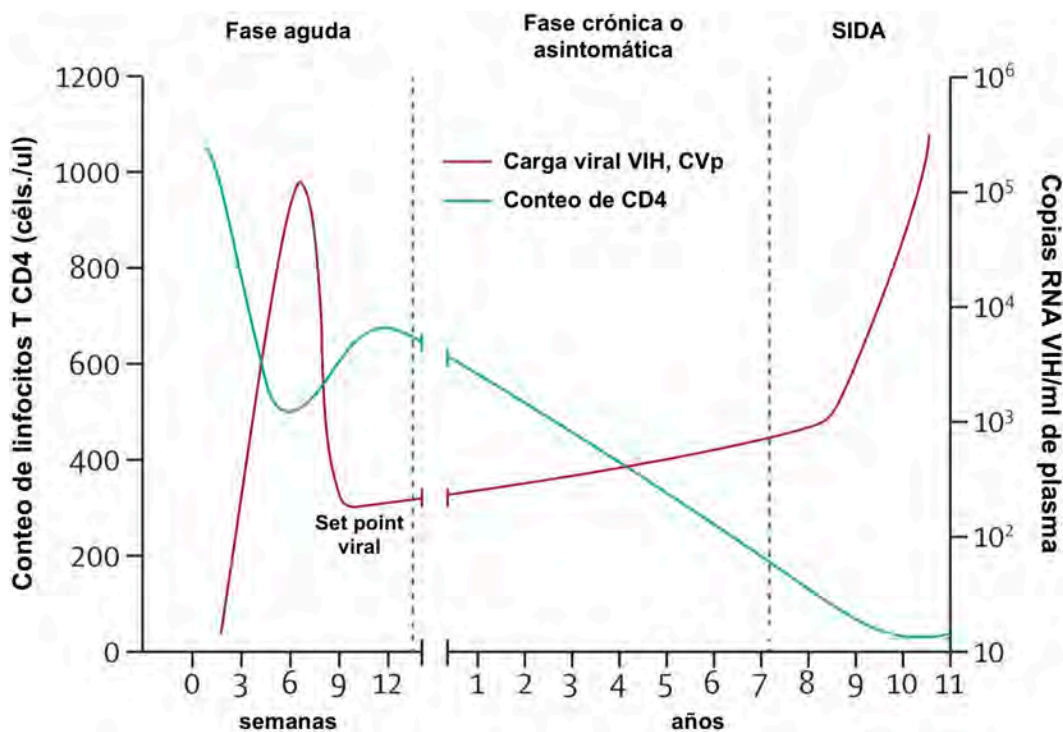


Figura 11. Historia natural de la enfermedad por VIH en ausencia de TAR.

Gráfica que representa la historia natural promedio (90% de los individuos) en una infección por VIH sin tratamiento antirretroviral (TAR) en términos de los parámetros clínicos típicos de la progresión a la enfermedad: carga viral en plasma (Cvp) y el conteo de T CD4. Se puede observar después de la infección por VIH, la etapa aguda (en semanas) caracterizada por un pico de viremia que después es controlado por el sistema inmune del hospedero hasta el set point viral; de igual manera, el conteo de T CD4 disminuye y luego se estabiliza hasta alcanzar un nivel estable hacia el final de esta etapa. En la etapa crónica (que sucede en años) los niveles de CVp aumentan lenta y progresivamente, mientras que los CD4 disminuyen lentamente hasta llegar a niveles menores de 200 CD4, lo que se define como etapa de SIDA (donde se presentan enfermedades oportunistas y finalmente la muerte). Modificada de la referencia⁷⁶.

De acuerdo a la duración de la historia natural de la enfermedad, se ha clasificado en dos grandes grupos a los individuos infectados por el VIH. Un grupo denominado no progresores a largo plazo (*long term non-progressors*) en quienes por lo menos durante 10 años de infección y sin tratamiento antirretroviral permanecen sin síntomas, con niveles circulantes de células T CD4+ dentro de los límites de referencia y carga viral baja. A este grupo pertenece el 5 al 10% del total de infectados⁷⁷. El otro grupo se denomina progresores y en contraste, está constituido por más del 90-95% de la población infectada por el VIH. Este a su vez se divide en dos subgrupos: progresores promedio y progresores rápidos. Los progresores promedio, tienen una media de supervivencia de 10 años. En este se clasifica un 60 a 70% del total de infectados. El subgrupo de los progresores rápidos engloba al 30% de la población infectada y se caracteriza por un curso acelerado de la enfermedad, menos de 5 años, entre la infección, el SIDA y la muerte^{77,78}.

2.4 La inmunogenética de la enfermedad por VIH

El VIH continúa siendo un importante problema de salud pública con más de 1 millón de muertes en 2016 y más de 36 millones de muertes en las últimas tres décadas y aproximadamente 36.7 millones de personas que viven con VIH (<http://www.unaids.org/en/resources/>). Estas estadísticas han estimulado la investigación intensiva y han dado lugar a un progreso sustancial en la comprensión de la patogénesis del VIH. A pesar de la falta de una cura o de una vacuna efectiva, estos esfuerzos han llevado a una gran cantidad de información sobre el VIH y sus interacciones con el huésped, fortaleciendo el potencial para diseñar terapias efectivas para controlar al virus. Múltiples estudios longitudinales han proporcionado amplias evidencias de que el resultado clínico de la infección por el VIH-1 no tratada (en ausencia de tratamiento antirretroviral o TAR) es muy variable. Algunos individuos progresarán al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) dentro de un año de seroconversión, mientras que otros pueden controlar el virus en ausencia de fármacos durante más de dos décadas. Ahora se reconoce que aproximadamente 1 en 300 personas que se infectan con VIH mantienen el control espontáneo del VIH a niveles inferiores de detección mediante ensayos estándar⁷⁹. La gran mayoría de estos individuos tienen niveles muy bajos de viremia, en algunos casos, menores a 50 copias de virus por ml de plasma (estos últimos se conocen como controladores élite)⁷⁹. Una pequeña fracción de individuos son resistentes a la infección por VIH, incluso después de exposiciones repetidas. La variación en la respuesta al VIH entre los individuos probablemente se debe a interacciones complejas entre el virus, el hospedero y el medio ambiente. La importancia de la variación genética del hospedero en la patogénesis del VIH ha mostrado un gran auge en los últimos 15 años, en parte debido a las tecnologías de secuenciación de alto rendimiento que permiten analizar millones de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) en todo el genoma

humano. La definición de los factores genéticos del hospedero que influyen en la respuesta hacia el VIH puede ser útil para predecir las tasas de progresión a la enfermedad y pueden ayudar a entender la patogénesis del virus para conducir al desarrollo de terapias y vacunas. La mayoría de los efectos genéticos que se han identificado de manera concluyente involucran a genes que codifican receptores para la entrada del virus en las células y moléculas que participan en las respuestas inmunes innatas o adquiridas. En general, los *loci* del antígeno leucocitario humano (HLA, por sus siglas en inglés) de clase I han mostrado claramente los efectos más fuertes y consistentes sobre la progresión a la enfermedad por VIH. Probablemente esto no sea sorprendente, ya que estos datos confirman la importancia de las respuestas de los linfocitos T citotóxicos en el control del VIH. Además de su papel en la inmunidad adquirida o adaptativa, las moléculas HLA de clase I también sirven como ligandos para los receptores tipo inmunoglobulina de células asesinas (KIR, por sus siglas en inglés), un conjunto polimórfico de moléculas que modulan la actividad de las células asesinas naturales (NK, por sus siglas en inglés, *natural killers*) y algunos linfocitos T⁸⁰, y por lo tanto juegan un papel importante en la respuesta inmune innata.

2.4.1 Genética y función de los genes HLA y KIR

Las moléculas HLA de clase I y clase II están codificadas por genes localizados dentro del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) en el cromosoma 6p21.3. Los genes clásicos HLA de clase I (*HLA-A*, *-B* y *-C*) y clase II (*HLA-DR*, *-DQ* y *-DP*) dentro del MHC son los *loci* más diversos en el genoma humano, con el número de alelos que van de 5 para *HLA-DPA2* a 4950 para *HLA-B* (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla>, ver Tabla 4). Esta variación se concentra dentro de las regiones que codifican el surco de unión del péptido, e históricamente, los exones que codifican esta región han sido el principal foco de estudio en términos de determinar los efectos HLA sobre la susceptibilidad y la patogénesis de la enfermedad. Datos recientes, sin embargo, sugieren que las variantes en las regiones no codificantes, que pueden afectar el nivel de transcripción, traducción y *splicing*, también pueden ser importantes. Los genes HLA de clase I codifican moléculas que se expresan en la superficie de prácticamente todas las células nucleadas. Estas moléculas se unen a los epítomos (péptidos) que se originan de proteínas propias en condiciones normales, pero tras la infección de patógenos intracelulares (como el VIH), se unen a péptidos antigénicos derivados del patógeno, y los presentan a los linfocitos T CD8+ citotóxicos, iniciando así una respuesta de linfocitos T citotóxicos (CTL, por sus siglas en inglés). Las moléculas de clase I también regulan la actividad de las células NK a través de las interacciones de los receptores de las células NK. Los *loci* de clase II codifican moléculas que se expresan en la superficie de las células presentadoras de antígeno. Estas últimas, se unen a péptidos que se derivan

principalmente originadas extracelularmente y los presentan a los linfocitos T CD4+, lo que generalmente da como resultado la producción de citocinas que ayudan a otras células inmunes a responder y realizar su función. Los genes receptores de tipo inmunoglobulina de las células NK (receptores KIR) están dispuestos en el cromosoma humano 19q13.4 dentro del complejo de receptores de leucocitos y codifican moléculas que pertenecen a la superfamilia de receptores de inmunoglobulinas⁸¹. Consisten en un grupo de moléculas reguladoras que se expresan en las células NK y un subconjunto de células T. Los genes KIR2DL y KIR3DL codifican moléculas con colas citoplásmicas largas y son inhibidores en virtud de los motivos de inhibición basados en tirosina presentes en sus dominios citoplásmicos. Los genes KIR2DS y KIR3DS codifican moléculas con colas citoplásmicas cortas que transmiten señales de activación a través de su interacción con la molécula adaptadora DAP-12 (proteína de activación DNAX de 13kDa), que contiene un motivo de activación de inmunoreceptor basado en tirosina⁸². Existe una gran diversidad de haplotipos KIR como consecuencia de la recombinación homóloga no alélica (NAHR, por sus siglas en inglés), pero se han descrito dos grupos básicos de haplotipos denominados A y B⁸³. El haplotipo A es uniforme en término de contenido de genes y está compuesto por nueve genes que codifican predominantemente receptores inhibidores. El grupo B de haplotipos, por otro lado, contiene números variables de genes que codifican receptores activadores o inhibidores que varían de 4 a 17⁸⁴⁻⁸⁶. Existen también múltiples alelos para cada gen KIR⁸⁷, que codifican productos que pueden variar en el nivel de expresión o la capacidad funcional. Hasta ahora, sólo se han identificado alotipos HLA de clase I como ligandos para los KIR. El receptor KIR3DL reconoce moléculas de *HLA-B* y un subconjunto de moléculas *HLA-A* que tienen el motivo Bw4 definido serológicamente (determinado por las posiciones de aminoácidos 77-83). Algunos subtipos KIR3DL1 exhiben un efecto inhibitor más fuerte en presencia de subtipos *HLA-B* Bw4 que tienen isoleucina en la posición 80 (Bw4-80I) en oposición a treonina en la misma posición (Bw4-80T)^{88,89}. Los alotipos *HLA-B* Bw6 por otro lado no son ligandos de los receptores KIR, por lo tanto, los homocigotos para alelos *HLA-B* Bw6 sirven con un grupo de control negativo apropiado cuando se estudian los efectos de la enfermedad de los KIR3DL/S1 en combinación con los alelos *HLA-B* Bw4. Los alelos activadores KIR3DS1 y los inhibidores KIR3DL1 se segregan como alelos del mismo *locus* y comparten >97% de similitud en sus dominios extracelulares. A pesar de esta similitud, no hay evidencia directa de interacciones entre los alotipos KIR3DS1 y Bw4, aunque la evidencia indirecta de estudios genéticos, funcionales y de genética de poblaciones⁹⁰⁻⁹³ demuestran alguna forma (ya sea directa o indirecta) la interacción entre ellos. Todos los alelos *HLA-C* se pueden clasificar en dos grupos alotípicos distintos, incluyendo a los grupos 1 y grupo 2 basados en los dimorfismos en el dominio a1 (serina 77 y asparagina 80, asparagina 77 y lisina 80, respectivamente). El receptor KIR2DL1 inhibitorio interactúa con alotipos del grupo 2, mientras que KIR2DL2 y KIR2DL3 (que se segregan como alelos

del mismo *locus*) interactúan con los alotipos del grupo 1⁹⁴⁻⁹⁶. KIR3DL2 se une a *HLA-A*03* y *HLA-A*11*^{97,98}, KIR2DL4 se une a la molécula de clase I no clásica *HLA-G*⁹⁹ y KIR2DS4 se une a *HLA-A*11* así como a los grupos 1 y 2 de *HLA-C*¹⁰⁰. La activación de KIR2DS1 demuestra una unión débil al grupo 2 de *HLA-C*¹⁰¹, pero con baja afinidad y su ligando de alta afinidad no ha sido identificado. Los ligandos para la activación de KIR2DS2, KIR2DS3 y KIR2DS5 y los inhibidores KIR2DL5 y 3DL3 no se han identificado. Debido a la muerte espontánea de los blancos que carecen de MHC propios (hipótesis de la pérdida del reconocimiento de lo propio), inicialmente se pensó que las células NK no estaban restringidas por moléculas del MHC, pero ahora es claro que los receptores KIR inhibidores están implicados en la restricción de la función citotóxica de las células NK. Datos más recientes sugieren que durante el proceso de educación de las células NK, las interacciones entre receptores inhibidores expresados en la superficie de las células NK y las moléculas HLA de clase I son importantes para determinar el potencial funcional para responder y eliminar células anormales que expresan niveles aberrantes de moléculas HLA¹⁰². Si bien los KIR inhibidores están relativamente bien estudiados, la función de los KIR activadores sigue siendo desconocida. Los KIR activadores han evolucionado a partir de sus contrapartes inhibidores de manera que se unen a los ligandos HLA de clase I con una afinidad sustancialmente inferior a pesar de tener secuencias casi idénticas en sus dominios extracelulares. La relevancia biológica de las interacciones de baja afinidad entre la activación de KIR y las moléculas de clase I no está clara y no se ha estudiado a profundidad. También ha sido difícil estudiar la función de estos receptores ya que se desconocen sus ligandos de alta afinidad. Podría haber condiciones específicas que se requieren para las interacciones de alta afinidad, como la modificación de las moléculas HLA por un cofactor o el reconocimiento del HLA cargado con un péptido específico de la enfermedad. También es posible que la activación de los KIR necesite reconocer ligandos no HLA que se expresen de manera aberrante en células anormales o tumorales. Un informe reciente sugiere un papel alternativo para el péptido en la activación de células NK a través de KIR inhibidores. Los complejos HLA-péptido que se unen débilmente a KIR inhibidores pueden antagonizar la inhibición (denominado antagonismo peptídico) y provocar la activación de las células NK. Los complejos HLA-péptido de baja afinidad interrumpen o bloquean la sinapsis de inhibición directamente o antagonizando el efecto de los complejos de HLA-péptido de alta afinidad^{103,104}. Por lo tanto, por ejemplo, los péptidos virales específicos pueden unirse con una afinidad más baja a un KIR inhibidor, eliminando de ese modo las señales inhibitorias dominantes y dando como resultado la activación de las células NK. En última instancia, sin embargo, la actividad de las células NK dependerá de un equilibrio entre la inhibición y la activación suministrada a través de una variedad de receptores de células NK, incluida los KIR polimórficos.

2.4.2 Los *loci* HLA y el VIH

Los *loci* HLA se han asociado con más de 100 enfermedades, incluyendo a enfermedades autoinmunes, tumores malignos y enfermedades infecciosas. El VIH/SIDA es una de las pocas enfermedades infecciosas que muestra una clara y consistente asociación con los *loci* HLA. La importancia de los *loci* HLA en la enfermedad del VIH en relación con todas las demás variantes genéticas humanas individuales ha sido ahora confirmada por varios estudios de asociación de genoma completo (*genome-wide association studies*, GWAS, por sus siglas en inglés) (ver más adelante). Los estudios de GWAS apoyan numerosos estudios epidemiológicos y genéticos previamente descritos, que habían implicado muchos alelos HLA con la progresión a la enfermedad por VIH (ver Tabla 3). Por lo tanto, la evidencia previamente descrita señala a que los *loci* HLA son los genes asociados más fuertemente con el control diferencial de la enfermedad por VIH en humanos.

Tabla 3. Las asociaciones del antígeno leucocitario humano (HLA) y la enfermedad por VIH-1.

| Genotipo HLA | Efecto epidemiológico hacia la progresión a la enfermedad | Mecanismo sugerido |
|--|---|---|
| Homocigosis en HLA de clase I | Progresión acelerada | Respuesta reducida de CTLs ^{105,106} . Escape viral de alelos comunes ^{107,108} . |
| B*57 | Progresión lenta | Amplia reactividad a través de múltiples epítomos conservados en Gag y del fitness viral reducido de las variantes de escape ¹⁰⁹⁻¹¹² . |
| B*27 | Progresión lenta | Presenta un epítomo inmunodominante en Gag que requiere para escapar un patrón complejo de mutación ¹¹³⁻¹¹⁶ . |
| B*35-PX | Progresión acelerada | Especificidad de unión a péptidos. Interacción con ILT4/LILRB2 que resulta en disfunción de células dendríticas ^{117,118} . |
| Bw4 | Progresión lenta | Respuestas más específicas para el VIH ¹¹⁹ . |
| B*51 | Progresión lenta | Respuestas fuertes de CTLs para epítomos de Gag y Pol ¹²⁰ . |
| B*58:01 | Progresión lenta | Respuestas fuertes de CTLs para epítomos de Gag ¹²¹ . |
| B*58:02 | Progresión acelerada | Respuestas inefectivas de CTLs a epítomo de Env ¹²² . |
| B*13 | Progresión lenta | Respuesta dirigida a un epítomo conservado de Nef ¹²³ . Respuesta amplia de CTLs específicas para Gag ¹²⁴ . |
| B*81:01 | Progresión lenta | Capacidad replicativa baja de variantes de escape ¹²⁵ . |
| Supertipo DR1 3 y haplotipo DRB1*13-DQB1*06 | Progresión lenta | Selección de un epítomo Th1 altamente conservado en Gag ¹²⁶ . |
| DRB1*01 | Protección contra la infección | Desconocido ^{127,128} . |
| DRB1*15:03 | Susceptibilidad aumentada a la infección | Desconocido ^{127,128} . |
| DRB1*13:03 | Niveles de carga viral reducidas | Desconocido ¹²⁹ . |

2.4.3 Ventaja de los heterocigotos en los *loci* HLA

Las frecuencias alélicas HLA de clase I y II se encuentran distribuidos más uniformemente de lo esperado por el azar, con un exceso de alelos de frecuencia intermedia, lo que sugiere que la fuerza de selección neutral o equilibrada a través de la interacción entre el hospedero y la infección por patógenos que actúan sobre estos *loci*^{130,131}. Debido al extenso polimorfismo y la distribución uniforme de la mayoría de los alelos, la homocigosis en los *loci* de clase I no es muy común, y pocos individuos son homocigotos en los tres *loci*. La función principal de las moléculas HLA es presentar antígenos extraños (virales o tumorales) para provocar la respuesta de las

células T, por lo que el número de alelos distintos HLA expresados en la superficie celular está directamente relacionado con el rango de antígenos extraños que el hospedero puede presentar a las células T. Por lo tanto, los individuos que son heterocigotos en los *loci* HLA podrán presentar un repertorio más amplio de péptidos antigénicos a las células T en comparación con los homocigotos, ejerciendo así una mayor presión de selección sobre el patógeno para escapar de las repuestas de CTLs, que a su vez puede afectar el *fitness* o la capacidad replicativa del patógeno. Según esta hipótesis, cabría esperar que los individuos homocigotos para HLA progresaran más rápidamente a SIDA (<200 células CD4+/ μ l de sangre o presentar cualquiera de las más de 20 enfermedades oportunistas definitorias de SIDA) que los individuos heterocigotos después de la infección por VIH. De hecho, usando una gran cohorte de individuos infectados con VIH con fechas conocidas de seroconversión, se demostró una asociación altamente significativa entre la homocigosis en los alelos HLA de clase I y la progresión rápida al SIDA tanto en caucásicos como en afroamericanos. Se observó que los tres *loci* de clase I contribuyeron independientemente a la asociación, y el efecto fue más pronunciado en los individuos que eran homocigotos en dos o tres *loci*¹⁰⁵. Se observaron resultados similares para los homocigotos en *HLA-A* y *HLA-B* en otro estudio reportado¹³². Los datos obtenidos de los monos *Cynomolgus*, que tienen un conjunto restringido de haplotipos MHC, también respaldan el efecto protector de la heterocigosidad en donde los animales heterocigotos para los alelos CPH (o *MHC*) tienen cargas virales más bajas del virus de la inmunodeficiencia simiana crónica (VIS o *SIV*, por sus siglas en inglés) en comparación con los animales homocigotos¹⁰⁶. En general, los datos sugieren que los individuos homocigotos para los alelos HLA reconocen una gama más amplia de péptidos de VIH-1, lo que da como resultado respuestas específicas de CTLs más eficientes contra el patógeno. También puede llevar al virus un mayor tiempo para acumular mutaciones de escape en individuos heterocigotos HLA en relación con individuos homocigotos.

Una interpretación alternativa de los datos está basada en una hipótesis (o un modelo) de selección dependiente de frecuencia (o ventaja de los alelos raros o infrecuentes), que argumenta que el VIH se adapta a los alelos HLA que son comunes en la población. Son estos alelos los que se observan con mayor probabilidad en homocigosis. Los individuos heterocigotos HLA por otro lado son más propensos a portar alelos raros (en combinación con alelos comunes), a los que el virus no se ha adaptado, y por lo tanto las personas con estos alelos son más capaces de contener al virus. En apoyo de la hipótesis de la ventaja de los alelos raros, se ha demostrado una correlación positiva entre la carga viral (CVp) y la frecuencia de los supertipos HLA de clase I¹⁰⁸. Además, un estudio reciente que involucró cohortes de VIH de cinco continentes demostró una fuerte correlación positiva entre la frecuencia de mutaciones de escape de un epítipo de clase I y la prevalencia de los alelos HLA de clase I que lo restringen, sugiriendo la existencia de la adaptación viral a los alelos HLA a nivel

poblacional¹⁰⁷. Es plausible que tanto la ventaja de los heterocigotos como la ventaja de los alelos raros jueguen un papel en las personas infectadas por el VIH.

2.4.4 Diversidad de los alelos HLA de clase I y la progresión a la enfermedad por VIH

Distintos alelos HLA pueden mediar respuestas diferenciales a la infección por VIH en función de su capacidad para contener la replicación del VIH. El *locus HLA-B* es el más polimórfico de todos los *loci* HLA (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla>, ver Tabla 4). Estudios de datos funcionales también respaldan el papel dominante de los alelos *HLA-B* en el control del VIH. Un estudio con una gran cantidad de individuos infectados por VIH mostró que la mayoría de las respuestas de células T CD8+ (citotóxicos o CTLs, por sus siglas en inglés) estaban restringidas por *HLA-B* y que la variación en la CVp se asociaba predominantemente con la variación en el *locus HLA-B*¹²¹. Entre los efectos protectores de los alelos HLA identificados hasta la fecha, una de las asociaciones más consistentes han sido con el grupo alélico *B*57*^{121,133-136}. Casi el 40% de los controladores élite expresan algún alelo *B*57* en comparación con solo el 9% de los que no son controladores, que es aproximadamente la misma frecuencia observada en la población general^{135,136}. Los portadores de alelos *B*57* también son menos propensos a presentar síntomas de la infección aguda por el VIH-1¹³⁷. Múltiples estudios de asociación a nivel de genoma completo (*GWAS*, por sus siglas en inglés) también han demostrado que los SNPs (polimorfismos de un nucleótido) en LD (desequilibrio de ligamiento) con alelos *B*57* mostraron una fuerte asociación con un bajo *set point* viral de VIH. Quizás, debido al efecto inmunodominante de *B*57* sobre el VIH, las respuestas de CTLs restringidas por las moléculas *B*57* en la infección por VIH han sido muy bien estudiadas y proporcionan una idea del mecanismo detrás de esta protección. Las moléculas *B*57* se unen a varios epítomos inmunodominantes localizados en regiones conservadas de la proteína viral Gag^{110,138-141}, incluyendo al epítomo frecuentemente restringido Gag TW10¹¹³, y las respuestas de CTLs a estos epítomos altamente conservados pueden mantener una CVp suficientemente baja. El alelo caucásico *B*57:01* y el estrechamente relacionado *B*57:03* (de origen africano) ambos unen el mismo péptido de Gag a pesar de que utilizan repertorios de receptores de células T (*TCR*, por sus siglas en inglés) mutuamente excluyentes^{142,143}. Existe una fuerte evidencia de que las células T CD8+ ejercen una extrema presión de selección sobre las secuencias del VIH a lo largo de la infección^{110,144-149}. Las mutaciones de escapes pueden comprometer la respuesta de las células T CD8+ al alterar la unión de los péptidos virales a la molécula HLA de clase I o al alterar el reconocimiento por el TCR, o pueden dar como resultado una capacidad replicativa (fitness viral) significativamente reducida de las variantes de escape de los individuos que expresan *B*57*^{109,111}. Cuando estas mutantes de escape se transmiten a un individuo *B*57* negativo, las mutantes restringidos por *B*57* tienden a revertir al tipo silvestre¹¹⁰ (*wildtype*, cepa original

consenso circulante en la población), lo que indica de su efecto perjudicial sobre la capacidad replicativa (fitness viral). Las respuestas de CTL restringidas por las moléculas *B*57* también parecen implicar a un grupo mayor de células T vírgenes con una mayor reactividad cruzada en comparación con la de otros alelos HLA, que puede contribuir al control de la replicación viral y también puede prevenir hasta cierto punto el escape viral¹⁵⁰. Curiosamente, pequeñas diferencias entre los alelos *B*57* (denominados micropolimorfismos HLA) pueden tener un impacto significativo en el control del VIH como se sugiere en un estudio de individuos infectados con el VIH clado C en el que *B*57:03* se asoció con *set point* virales bajos en comparación con *B*57:02* y el alelo relacionado *B*58:01*¹⁵¹. Se demostró que estos tres alelos restringían epítomos únicos de VIH y ejercían diferencias en la presión de selección sobre el virus, destacando así el efecto de pequeñas diferencias entre las moléculas HLA (por ejemplo, *B*57:02* y *B*57:03* difieren en un solo aminoácido en posición 156) en la capacidad de controlar el virus. Un informe publicado en el 2011 demostró que las células T CD8+ restringidas por los alelos protectores *B*57* y *B*27* son resistentes a los efectos supresores de las Tregs (células T CD4 o CD8 con actividad supresora) porque expresan niveles muy bajos de Tim-3¹⁵². Además, se demostró que los CTLs restringidos por *B*57* y *B*27* eran capaces de matar directamente a Tregs. Tim-3 regula negativamente la respuesta inmune tras la interacción con su ligando Gal-9¹⁵³, que es expresado constitutivamente por las Tregs¹⁵⁴. El efecto general es que los CTLs restringidos por estos alelos no se suprimen, lo que les permite funcionar al máximo durante la infección crónica. En conjunto, las características de las respuestas de CTLs restringidas por *B*57* pueden explicar su función protectora en la infección por VIH. Además, los alelos *B*57* pueden intervenir en la regulación de la función de las células NK a través de su interacción con el receptor KIR3DL1/S1 (ver más abajo), que también puede contribuir a la protección de *B*57* contra la progresión hacia la enfermedad por VIH/SIDA. El alelo *HLA-B*27* también se asocia con una progresión más lenta hacia el SIDA y el control de los niveles de CVp^{133,134,136,155}. Al igual que *B*57*, *B*27* reconoce un epítomo conservado en Gag, pero a diferencia de *B*57*, su restricción se centra en un único epítomo de Gag llamado KK10¹¹³⁻¹¹⁵. La restricción del epítomo KK10 suprime eficazmente la replicación del VIH y retrasa significativamente la aparición del SIDA. El epítomo KK10 se encuentra en una región conservada y puede tolerar muy poca variación. En consecuencia, bajo la presión selectiva de *B*27*, el virus debe experimentar un patrón complejo de mutaciones para evitar el reconocimiento, pero una vez que el virus escapa completamente, es capaz de replicar a niveles del virus consenso o silvestre (*wildtype*)¹¹⁶, lo que resulta en una progresión rápida a la enfermedad por VIH^{114,115,156}. En contraste con las mutaciones de escape de *B*57* que tienden a revertir al virus *wildtype* en sujetos *B*57*, las mutantes de escape a *B*27* parecen ser más estables (debido a las mutaciones compensatorias que aumentan el fitness viral) tras la transmisión a sujetos *B*27*¹¹⁶. Además, la transmisión de la variante de escape a *B*27* positivos da como

resultado que el hospedero receptor no controle la replicación del virus¹⁵⁷. También se ha sugerido un mecanismo alternativo de evasión viral. Un estudio encontró que una variante de escape de CTL del epítipo KK10 con una sustitución de aminoácido de leucina por metionina en la posición 6 (L6M) era capaz de provocar una respuesta de células T CD8+ secundaria (respuesta de novo) que utiliza un repertorio de TCRs alternativo, pero también mejoró sustancialmente la unión del complejo *B*27*-KK10 L6M al receptor inhibitor de ILT4 (recientemente denominado como LILRB2) que se expresa en células mielomonocíticas¹⁵⁸. Esta interacción da como resultado un fenotipo tolerable o permisible en estas células por una expresión disminuida (en la superficie celular) de marcadores de maduración de células dendríticas (DC, por sus siglas en inglés) y moléculas coestimuladoras. La disfunción de las DC a su vez puede resultar en un deterioro funcional de las células T CD8+. A diferencia de *B*57* y *B*27*, los alelos del grupo alélico *HLA-B*35* se asocian consistentemente con la susceptibilidad hacia la progresión a la enfermedad por VIH^{105,117,159-161}. El efecto *B*35* parece ser más pronunciado en las personas de ascendencia europea o caucásica que en las de ascendencia africana, lo que plantea la cuestión de si los subtipos *B*35* específicos son responsables de este efecto. De hecho, el análisis de los subtipos *B*35* indicó que la progresión rápida al SIDA entre los sujetos *B*35* positivos se debe a los alelos menos comunes *B*35:02* y *B*35:03*, y no al alelo mucho más común *B*35:01*¹¹⁷. El alelo *B*35:01* es el subtipo de *B*35* más predominante en individuos de ascendencia africana, mientras que los subtipos *B*35:02/03* sólo se detectan o expresan esporádicamente, lo que probablemente explica la falta de asociación de *B*35* con la progresión al SIDA en los afroamericanos. Esta dicotomía de los subtipos *B*35* puede estar basada en su especificidad de unión de péptidos virales. El alelo expresado frecuentemente *B*35:01* une preferiblemente epítopos con prolina en la posición 2 (P2) y tirosina en posición 9 (P9) (denominado *B*35-PY*). Mientras que los alelos *B*35:02/03* y el relacionado *B*53:01* (denominados grupo *B*35-PX*) son más ampliamente reactivos y unen epítopos con prolina en P2, pero aceptan varios aminoácidos en P9 (pequeños residuos hidrofóbicos como leucina, metionina o valina), aunque los aminoácidos con cadenas laterales aromáticas (incluida el residuo tirosina) están desfavorecidos (de allí el nombre *B*35-PX*, por unir cualquier residuo, pero no tirosina)¹⁶²⁻¹⁶⁴. La principal diferencia entre los grupos *B*35-PX* y *PY* está en la posición 116 de la molécula *HLA-B* (tirosina o fenilalanina para *PX* frente a serina para *PY*), que forma el suelo del sitio de unión a péptido del bolsillo F (F-pocket) y que interactúa directamente con el residuo P9 del péptido que se une¹⁶⁴. Estos resultados acentúan aún más que variaciones menores (micropolimorfismos) en las moléculas HLA de clase I pueden tener un impacto significativo en la patogénesis del SIDA. Sin embargo, la especificidad de unión del péptido puede no explicar la diferencia entre los subtipos *B*35* en la progresión a la enfermedad por VIH, ya que los datos de estudios in vitro no respaldan claras diferencias en las especificidades de la unión al péptido entre los *B*35-PX*

y *B*35-PY*^{165,166}. Por el contrario, los ensayos funcionales han demostrado que el nivel de CTLs Gag específicos está correlacionado inversamente con las CVp en individuos *B*35-PY* pero no *B*35-PX*, lo que sugiere una diferencia en la calidad y/o cantidad de la actividad de CTLs VIH específicas entre los individuos *B*35-PX* y *B*35-PY* positivos¹⁶⁷.

Recientemente, se sugirió una nueva visión del efecto de susceptibilidad de *B*35* que involucra a las células dendríticas (DCs, por sus siglas en inglés)¹¹⁸, que son cruciales en la regulación de las respuestas de CTLs. La actividad de las DCs está regulada por una serie de receptores inhibidores y activadores, uno de los cuales es el transcrito 4 inhibidor tipo inmunoglobulina (ILT4, por sus siglas en inglés, ahora denominado LILRB2^{168,169}). Se demostró que los tetrámeros de *B*35-PX* se unen a ILT4/LILRB2 con mayor afinidad que los tetrámeros de *B*35-PY* cargados con los mismos péptidos de VIH, lo que puede conducir a la disfuncionalidad de las DCs y una acelerada progresión a la enfermedad¹¹⁸. Notablemente, ILT4/LILRB2 se regula positivamente durante la infección por VIH¹⁷⁰.

Aunque los alelos *B*57*, *B*27* y *B*35-PX* se asocian consistentemente con tasas diferenciales hacia la progresión a la enfermedad por VIH/SIDA, su influencia parece producirse durante distintos intervalos después de la infección por VIH. Usando una cohorte de >2600 individuos VIH+, se determinaron los efectos de estos alelos en la progresión a intervalos distintos después de la infección: seroconversión a <200 CD4; <200 CD4 a la presentación de enfermedad definitiva de SIDA; y la enfermedad definitiva de SIDA a la muerte¹³³. Este estudio concluyó que ninguna de las asociaciones parece durar todo el curso de la enfermedad, más bien, cada alelo se dirige a un intervalo distinto de la progresión a la enfermedad por VIH. El efecto de *B*35-PX* es efímero durante la etapa más temprana de la disminución de las células T CD4+. La protección mediada por *B*57* también ocurre temprano después de la infección, pero una vez que los conteos de células T CD4+ han caído a <200 células/ml de sangre, el efecto protector de *B*57* comienza a disminuir. Por el contrario, el grupo alélico *B*27* no muestra una protección significativa en las primeras etapas antes de que los conteos de células T CD4+ hayan disminuido, pero retrasa significativamente la progresión a una enfermedad definitiva de SIDA después de la depleción de CD4. El momento discreto de la influencia de los alelos HLA sobre el VIH sugiere que el efecto HLA no es necesariamente uniforme y puede depender de la naturaleza de los epítomos antigénicos reconocidos por estos subtipos.

Además de las principales asociaciones canónicas descritas anteriormente, también se han descrito otras asociaciones con alelos HLA de clase I y la progresión a la enfermedad por VIH (ver Tabla 3). Los alelos *HLA-B* con el dominio Bw4 (definido históricamente por serología, recientemente definido por los aminoácidos 77-83) se han correlacionado con la protección hacia el avance a la enfermedad por VIH en una serie de estudios^{119,171}.

Cuando se trató como un grupo, la protección de Bw4 es relativamente más débil y menos consistente en comparación con B*27 o B*57 (ambos portadores de Bw4). Sin embargo, cuando los alelos HLA se clasificaron por riesgo relativo, hay una clara tendencia a que los alelos Bw4 positivos se agruparon del lado protector (Figura 12). Otros alelos que se asocian con la progresión a la enfermedad por VIH incluyen a los alelos protectores B*13^{123,124}, B*51:01¹³⁴, B*58:01^{108,121} y B*81:01^{125,172}, y el alelo susceptible B*58:02^{121,122}. Algunos de estos alelos tienen frecuencias alélicas distintas entre las poblaciones, lo que puede explicar las asociaciones inconsistentes en los diferentes estudios de cohortes.

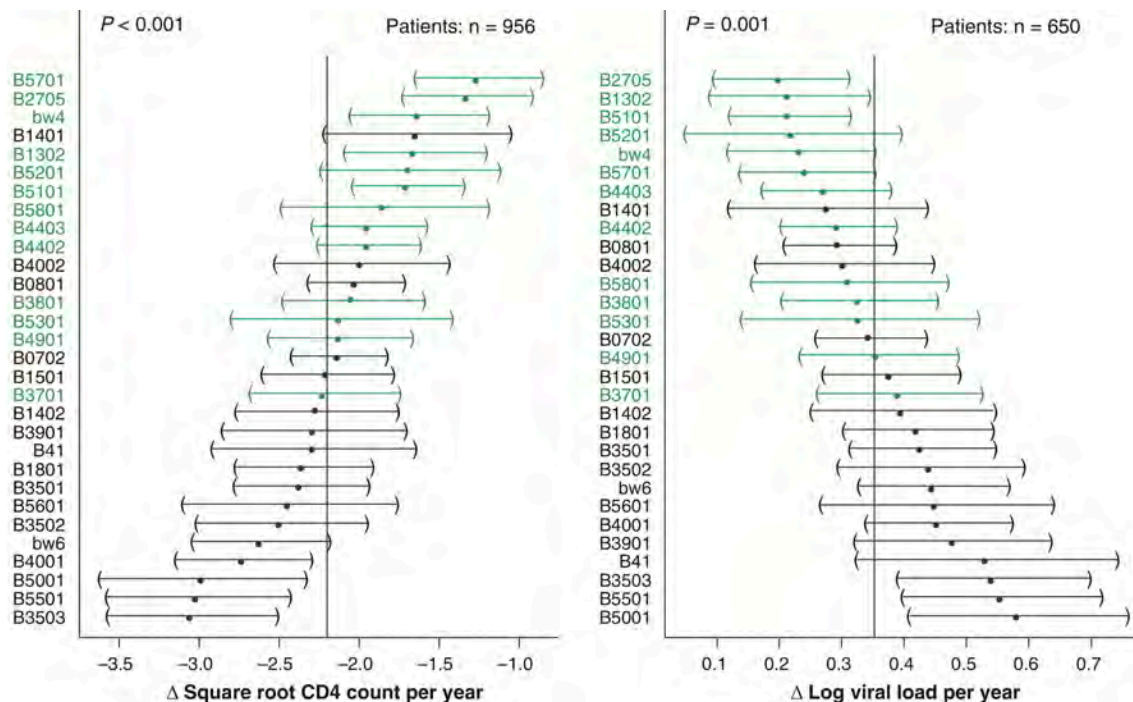


Figura 12. Efecto de los alelos HLA-B sobre el conteo de CD4 y la CVp a través del tiempo.

En las gráficas se muestra el cambio promedio de la raíz cuadrada de los conteos de células T CD4+ (panel izquierdo) y de la carga viral plasmática (CVp, panel derecho) a lo largo del tiempo y los intervalos de confianza de 95% (que se determinaron mediante regresiones lineales de efectos mixtos). Los alelos HLA-B se ordenan desde los más protectores (arriba) a los menos protectores o de riesgo (abajo). La línea vertical que se encuentra en el medio de cada gráfica representa el promedio de la muestra. Los intervalos de confianza de los alelos que se desvían significativamente del valor promedio no cruzan la línea promedio. Los alelos HLA-B Bw4 se muestran en color verde. Figura tomada de la referencia¹⁷³.

2.4.5 Diversidad de los alelos HLA de clase II y la progresión a la enfermedad por VIH

Los linfocitos T CD4+ desempeñan un papel crítico en la respuesta inmune y al mismo tiempo son el blanco principal de la infección por VIH¹⁷⁴. Aunque la mayoría de los linfocitos T CD4+ no están infectados y, por lo tanto, son capaces de contribuir a la respuesta antiviral, existe un deterioro significativo en su capacidad proliferativa en individuos VIH+ virémicos^{175,176}. Además, se requieren de los T CD4 para el desarrollo y mantenimiento de los linfocitos T CD8+ citotóxicos¹⁷⁷⁻¹⁸⁰. A pesar del papel de las células T CD4+ en la respuesta

antiviral, los datos sobre el efecto de la variación genética en los *loci* HLA de clase II sobre la progresión a la enfermedad por VIH no son tan convincentes como los de clase I. Sin embargo, hay cierta evidencia de varios estudios que indican un efecto de los alelos/haplotipos de clase II específicos sobre la progresión a la enfermedad por VIH. Se ha descrito un efecto protector para el grupo alélico *HLA-DRB1*01* y un efecto susceptible para *DRB1*15:03* entre las poblaciones africanas^{127,128,181}. *DRB1*13:03* se ha asociado con niveles de CVp reducidos en poblaciones infectados con los clados B y C¹²⁹, y el haplotipo *DRB1*13-DQB1*06* ha demostrado una asociación con el control viral después de la interrupción del TAR¹²⁶. También se ha descrito que los individuos que expresan *DRB1*13:01* tiene menos probabilidades de transmitir el virus a sus parejas seronegativas, a pesar de la falta de efecto sobre la CVp¹⁸¹.

Las vacunas antivirales más exitosas son aquellas que provocan anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, para un virus altamente variable como el VIH, el diseño de la vacuna puede ser desafiante debido a las dificultades asociadas con la obtención de anticuerpos ampliamente neutralizantes que serán efectivos contra todos los aislados. Curiosamente, un pequeño porcentaje de individuos infectados por VIH desarrollan anticuerpos protectores ampliamente neutralizantes¹⁸²⁻¹⁸⁵, y será importante determinar si la variación de los *loci* HLA de clase II juega un papel en la calidad y cantidad de anticuerpos anti-VIH.

2.4.6 Los estudios de asociación a nivel de genoma completo (GWAS) en la enfermedad por VIH

Se anticipó un estudio de asociación a nivel de genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) cuando se realizó el primero de los mismos en el año 2007¹⁸⁶. Pudo haber sido decepcionante para algunos que la variante más significativa del genoma fue una que señaló al alelo *B*57:01* (rs2395029 en HCP5), pero para aquellos que estudian los efectos genéticos de HLA clase I en la progresión a la enfermedad por VIH, fue un testimonio de la importancia de estos *loci* en la determinación del resultado clínico después de la infección por VIH. Desde entonces, varios GWAS han identificado a la región del complejo principal de histocompatibilidad (CPH o MHC, por sus siglas en inglés) como los *loci* dominantes en términos de su influencia en la progresión a la infección por VIH, incluidos los dos estudios más grandes^{186,187}. De hecho, el único *locus* identificado en estos estudios fue la región HLA de clase I, especialmente en la región de los genes *HLA-B* y *HLA-C* (Figura 13). Otras variantes cercanas a genes interesantes fuera del MHC, como *CXCR6* y *PARD3*, también han mostrado significancia genómica, pero no se han replicado en segundos estudios.

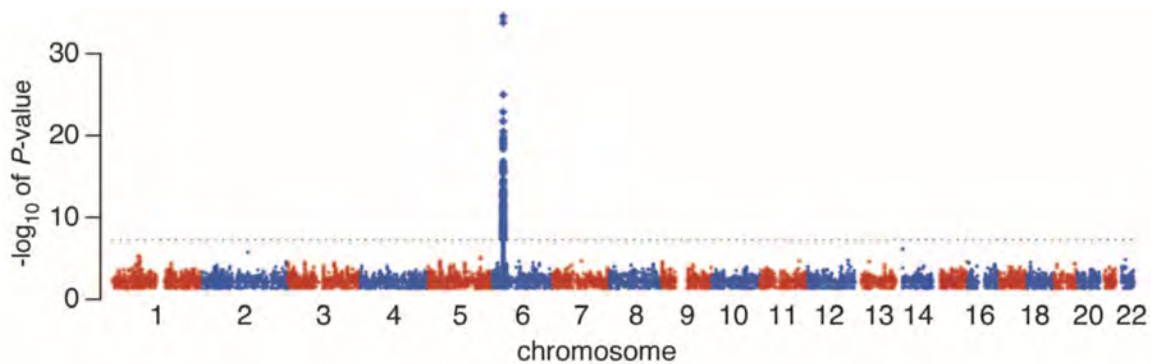


Figura 13. Estudio de asociación de genoma completo (GWAS) en sujetos VIH+ de origen caucásico.

Se muestra una gráfica Manhattan con 1.3 millones de SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) autosómicos del GWAS que se realizó en individuos VIH+ de origen caucásico. Se compararon a individuos controladores (aquellos con CVp <2000 copias de RNA de VIH/ml durante 3 muestras en un rango de 12 meses) contra progresores crónicos con enfermedad avanzada. Sólo los SNPs en el MHC en el cromosoma 6 y en ningún otro lugar alcanzaron el umbral de significancia en todo el genoma. El umbral de significancia está indicado por una línea horizontal punteada (valor $p < 5 \times 10^{-8}$). Los SNPs se alternan de color azul y rojo entre los cromosomas. Tomada de la referencia¹⁸⁷.

La mayoría de los GWAS diseñados para estudiar los resultados después de la infección por VIH han usado muestras de individuos de origen caucásico con la excepción de los publicados por Pelak et al¹⁸⁸ y Pereyra et al¹⁸⁷. Ambos estudios sugieren que *HLA-B*57:03* tiene el mayor efecto y se sabe que este alelo se asocia con la protección en personas de ascendencia africana. La falta de una asociación clara en la infección por VIH identificada a través de GWAS ha planteado la posibilidad de que las variantes genéticas raras puedan proteger de la infección por VIH, pero son difíciles de descubrir dado el poder estadístico de los GWAS^{189,190}. La variante rs9264942 localizada a 35Kb río arriba (*upstream*) de la región codificante del gen *HLA-C* fue la segunda asociación significativa e independiente en el estudio Euro-CHAVI¹⁸⁶ y la asociación más significativa en el análisis del International HIV Controller Study¹⁸⁷. Aunque este polimorfismo de un solo nucleótido (*SNP*, por sus siglas en inglés) estuvo ausente en las versiones anteriores de los chips de Illumina utilizadas por algunos estudios, otra variante, rs10484554, que se encuentra muy cerca de rs9264942, se identificó como significativo a nivel de genoma completo en el análisis de la CVp temprana en el estudio PRIMO/ANRS01¹⁹¹. Es probable que este SNP esté identificando el mismo efecto de rs9264942 a través de su desequilibrio de ligamiento. En el artículo de Pereyra et al¹⁸⁷ llevaron el análisis de datos de GWAS a un paso más allá al analizar los residuos de aminoácidos individuales dentro de los *loci* HLA después de la tipificación HLA o la imputación de los subtipos HLA. Estos datos mostraron que las asociaciones de los SNPs derivados de los datos de GWAS se debieron principalmente a polimorfismos en aminoácidos que se encuentran en el surco o sitio de unión al péptido de la molécula *HLA-B*, y en particular en las posiciones de aminoácidos 67, 70 y 97 en *HLA-B* (Figura 14), que son todos altamente polimórficos, que participan en la interacción directa con los péptidos que unen, y que se encuentran en fuerte desequilibrio de ligamiento (LD) con las otras variantes implicadas en la unión de péptidos. No existe

una función conocida de estas posiciones de aminoácidos en el control del VIH más allá de su participación en la unión de péptidos, con la excepción de un dimorfismo en la posición 245 en el dominio α -3 de la molécula de clase I, que también mostró una asociación significativa con el control del VIH y se sabe que afecta la fuerza de la interacción entre la molécula HLA y la molécula CD8^{192,193} (Figura 14).

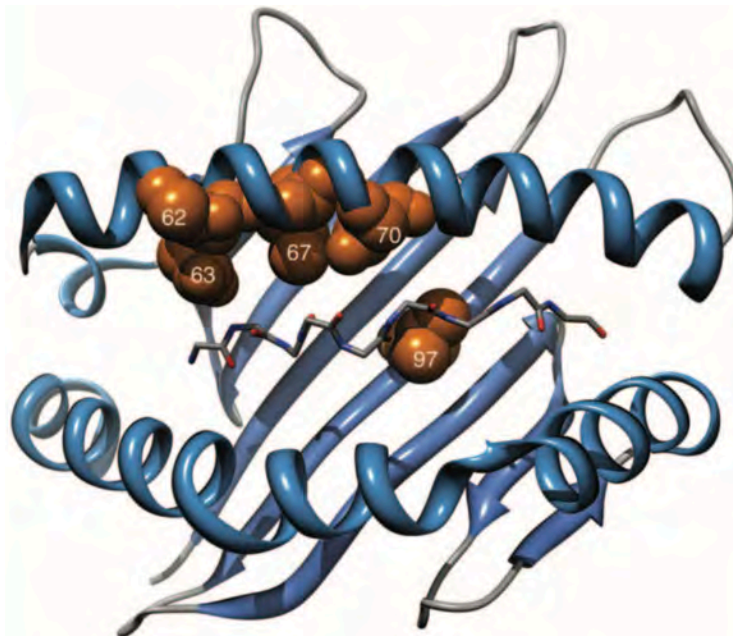


Figura 14. Aminoácidos del surco de unión a péptido de la molécula *HLA-B* asociados en GWAS al control del VIH.

Representación tridimensional (α -hélices y β -plegadas) del surco de unión a péptidos de la molécula *HLA-B*, en donde se señalan las posiciones de aminoácidos (esferas de color naranja) 62, 63, 67, 70 y 97 asociadas en GWAS al control de la replicación del VIH. Acomodado en el centro del surco de unión a péptido se muestra el epítipo. Figura tomada y modificada de la referencia¹⁸⁷.

Se ha informado varias veces que la heterocigosidad para CCR5 Δ 32 (depleción de 32 pares de bases del gen CCR5), una variante que no está en desequilibrio con ningún SNP en los chips, tiene un efecto modesto sobre la progresión a la enfermedad por VIH antes de los GWAS¹⁹⁴, pero esta variante no mostró una asociación significativa hasta que fue interrogado con números muy grandes^{186,195}.

2.5 Complejo Principal de Histocompatibilidad

2.5.1 Organización Genética

El complejo principal de histocompatibilidad (CPH o *MHC* [*Major Histocompatibility Complex*], por sus siglas en inglés) es un grupo de genes que abarca una región extensa del genoma de la mayoría de los vertebrados y que juega un papel fundamental en el establecimiento de la respuesta inmune, la autoinmunidad y en el éxito reproductivo. Los genes MHC se localizan en el brazo corto del cromosoma 6, específicamente en la banda

6p21.3 ocupando aproximadamente 4 megabases (Mb, millón de pares de bases). Muchos de estos genes están relacionados entre sí, funcional y estructuralmente. El MHC fue descubierto como un *locus* extendido con un alto contenido de genes sumamente polimórficos que determinaban el pronóstico de los tejidos transplantados entre individuos. Los primeros descubrimientos se realizaron en cepas cosanguíneas de ratones que tenían rechazo agudo a injertos tisulares^{196,197}.

La región de genes que comprende al MHC está dividida de manera arbitraria en tres regiones designadas como clases, éstas son clase I, II y III, mismas que en conjunto contienen más de 200 *loci*, aunque se piensa que existen muchos más genes sin función conocida aún. La región de la clase I se encuentra en el extremo más telomérico del MHC, ocupa aproximadamente 2 Mb y hasta ahora se conocen 25 *loci*, aunque se calcula que podría tener más de 50. La región de clase II es la más centromérica del MHC, tiene un tamaño de aproximadamente 0.8Mb y contiene unos 34 *loci*. La región clase III se encuentra entre los genes de la clase I y II, ocupa unas 2.2Mb y contiene 63 *loci* (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Se calcula que aproximadamente el 10% de la secuencia de DNA del MHC codifica para proteínas funcionales, pero la función del 90% restante se desconoce.

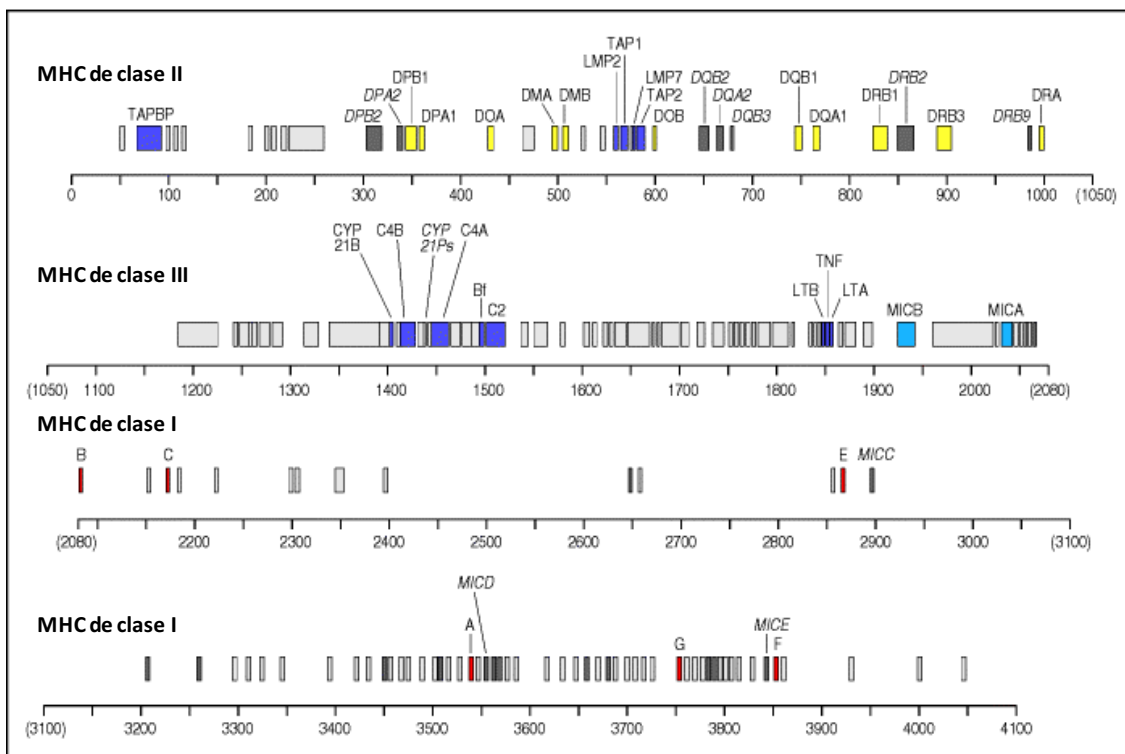


Figura 15. Mapa genético detallado de los genes del Complejo Principal de Histocompatibilidad.

Se muestra un mapa de la organización de las clases I, II y II de los genes del CPH con distancias genéticas aproximadas en pares de bases (pb). Los genes con función conocida son mencionados en el texto. Los genes adicionales indicadas en la clase I (por ejemplo, E, F y G) pertenecen a esta clase codificadas como moléculas Ib (no clásicas); los genes adicionales en clase I son pseudogenes. Los genes mostrados en la clase III codifican para

proteínas del complemento C4 (dos genes, C4A y C4B), C2 y el factor B (en el mapa aparece como Bf), así como los genes que codifican para TNF α y linfotóxina (LTA y LTB). Cercanamente relacionados a los genes C4 se encuentra el gen de la 21-hidroxilasa (CYP 21B). Los genes en color gris y escritos en itálicas son pseudogenes. Los genes en rojo son de HLA clase I, con excepción de los genes MIC, que están en azul. Los genes HLA clase II se muestran en amarillo. Los genes que tienen función inmunológica y que están en la región MHC (pero no relacionados con HLA clase I y II) se muestran en morado. Tomado y modificado de la referencia¹⁹⁸.

2.5.2 Genes MHC de clase I

Algunos genes del MHC reciben nombres específicos dependiendo de la especie en que se encuentren. En el humano, esta familia de genes se conoce como Antígeno Leucocitario Humano o HLA (por sus siglas en inglés, *Human Leucocyte Antigen*). En ratones, estos genes se llaman H2 y presentan una alta homología con el HLA humano. Los genes HLA agrupados en la región de clase I del MHC codifican para proteínas que se expresan en la superficie de la mayoría de las células de los vertebrados que los presentan. Estas proteínas tienen la función de presentar péptidos al receptor de células T (TCR, por sus siglas en inglés, *T Cell Receptor*) provenientes de patógenos intracitoplasmáticos (como algunos virus) y de antígenos tumorales, y que son procesados en el interior de las células. Algunos genes HLA parecen haber perdido esa función ya que, aunque la estructura de la proteína sugiere que en algún momento tuvieron la capacidad de unir péptidos, no son capaces de presentarlos en la superficie celular. La estructura de las proteínas codificadas por esos genes atípicos es muy distinta a la estructura de las proteínas codificadas por los genes HLA de clase I llamados clásicos. Aun cuando los genes atípicos no presentan necesariamente funciones inmunológicas precisas, algunos expertos los consideran funcionalmente relacionados a los genes clásicos¹⁹⁹.

En la región de clase I, los *loci* de HLA están entremezclados con otros *loci* no relacionados y cuya función inmunológica se desconoce, algunos ejemplos de ellos son el *locus* que codifica para la cadena de β tubulina, el gen de la proteína de unión a GTP, el factor de transcripción de unión a octámeros, entre otros.

De los *loci* HLA de clase I, se sabe que ocho de ellos son genes funcionales (*HLA-A, B, C, E, F, G, MICA* y *MICB*), cuatro son pseudogenes (*HLA-H, J, K* y *L*), cuatro son pseudogenes truncados (*HLA-75, 16, 80* y *90*) y tres son fragmentos de genes (*HLA-17, 21* y *30*). Los genes HLA clase I se dividen en dos categorías: clase Ia y clase Ib, los de clase Ia (genes clásicos; *HLA-A, B* y *C*) unen péptidos y los presentan al receptor de células T, estas proteínas se expresan en la superficie de las células somáticas, pero en mayor cantidad en células linfoides y en poblaciones humanas tienen un alto grado de polimorfismo. Las proteínas codificadas en los genes de clase Ib (genes no clásicos; *HLA-E, F* y *G*) presentan péptidos a un subgrupo de células T, su patrón de expresión en los tejidos es distinto al de las moléculas Ia y presentan un número reducido de variantes o alelos²⁰⁰ (bajo polimorfismo). Los *loci* *HLA-E, -F* y *-G* parecen tener aún restos de funcionalidad o bien se han especializado en presentar ciertos péptidos con otros ligandos, en el ratón algunas moléculas clase Ib aparentemente se han

especializado en presentar péptidos codificados en genes del DNA mitocondrial. Finalmente, también están los pseudogenes recientemente inactivados y pseudogenes truncados²⁰¹ (fragmentos de genes) que no presentan ninguna función.

2.5.3 Genes MHC de clase II y III

La región de clase II contiene una gran cantidad de genes tales como los LMP2 y LMP7 que codifican para subunidades del proteasoma y los genes TAP1 y TAP2 que codifican para proteínas transportadoras de péptidos, también se encuentra el pseudogen HLA-Z1. Las moléculas HLA de clase II son heterodímeros formados por una cadena alfa y otra beta y están clasificadas en cinco familias: *HLA-DP*, *-DN*, *-DM*, *-DO*, *-DQ* y *-DR*. Cada una de estas regiones incluye dos genes: A y B, que codifican para la cadena α y β respectivamente. Notoriamente, las dos cadenas que forman una molécula HLA de clase II provienen de la misma familia; así por ejemplo la cadena DP alfa se asocia con una cadena DP beta y una DM alfa con DM beta. Con respecto a la familia DR, todos los humanos tienen un *locus* DRA (DR alfa) pero difieren en el número de *loci* DRB por cromosoma (pueden ser de 2 a 5 *loci* diferentes). Se conocen nueve *loci* DRB: *HLA-DRB1*, *-DRB3*, *-DRB4* y *-DRB5* que son funcionales; *HLA-DRB2*, *-DRB6*, *-DRB7* y *-DRB8* que son pseudogenes; y *HLA-DRB9* que es un gen truncado. Los diferentes números y combinaciones de los genes DRB definen varios haplotipos *HLA-DR*.

La región de clase III contiene genes que están principalmente involucrados en la inmunidad natural. En primer lugar, encontramos los genes que codifican para los componentes iniciales de la cascada del complemento como C4, C2 y el factor B, así como los genes del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la linfotóxina. Además, existen otros genes como los de las proteínas de choque térmico, la 21-hidroxilasa, la valil-tRNA sintasa, entre otros.

2.5.4 Estructura de las moléculas HLA

Tanto los genes de clase I como los de clase II están divididos en exones e intrones; el gen completo, excepto su región reguladora, es transcrito a RNA, pero los intrones son removidos durante el procesamiento del transcrito primario²⁰². La organización de los exones e intrones de los genes HLA de clase I es muy similar a la de otras especies de vertebrados. Cada gen de clase I contiene 6 o 7 exones, el exón 1 abarca la región 5' no traducida (5'UT) y un pequeño espacio de DNA que codifica para el péptido señal. La región 5'UT es transcrita a RNA que forma parte de la secuencia de mRNA pero no es traducida a proteína. El péptido señal es el responsable del paso de la proteína a través de la membrana durante la síntesis en el retículo endoplásmico, después de esto el

péptido señal es eliminado. Los exones 2, 3 y 4 codifican para tres dominios denominados $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$ respectivamente¹⁹⁶ (Figura 16).

Las moléculas de clase I constan de dos cadenas polipeptídicas unidas de forma no covalente: una cadena alfa (cadena pesada) codificada por genes HLA de 44 a 47kDa y una subunidad de 12kDa no codificada en el MHC denominada β_2 -microglobulina. Cada cadena alfa está orientada de manera que aproximadamente tres cuartas partes del polipéptido se extienden hacia el medio extracelular, un breve segmento hidrofóbico cruza la membrana celular y los residuos carboxilos terminales se localizan en el citoplasma. Los segmentos amino terminales, cada uno con una longitud aproximada de 90 residuos, interactúan para formar una plataforma de una lámina de 8 hebras antiparalelas con plegamiento beta que soportan dos hebras paralelas de hélice alfa. Esto forma la hendidura de unión a péptidos de las moléculas de clase I. El tamaño que tiene es suficientemente grande (aprox. $25\text{\AA} \times 10\text{\AA} \times 11\text{\AA}$)¹ para unir péptidos de 8 a 11 aminoácidos con una conformación extendida y flexible. Los extremos de las hendiduras de unión a péptidos de clase I están cerrados de forma que los péptidos grandes no pueden unirse.

Los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ contienen los sitios de unión a péptidos producidos durante el procesamiento de antígenos; a estos dominios se les llama dominios de unión de péptido. El dominio $\alpha 3$ tiene una estructura característica que también existe en las inmunoglobulinas, este segmento es altamente conservado en todas las moléculas de clase I. El exón 5 codifica para la región transmembranal de la molécula y los exones 6 y 7 para la región citoplásmica de la proteína. En el extremo carboxilo terminal del dominio $\alpha 3$ hay una extensión de aproximadamente 25 aminoácidos hidrofóbicos que atraviesa la bicapa lipídica de la membrana plasmática. Inmediatamente después existen unos 30 residuos localizados en el citoplasma en los que se incluye un grupo de aminoácidos básicos que interactúan con la cabeza de los fosfolípidos de la cara interna de la bicapa lipídica y que anclan las moléculas de HLA en la membrana plasmática.

El *locus* del gen de la β_2 -microglobulina se encuentra en el cromosoma 15. La β_2 -microglobulina interactúa de forma no covalente con el dominio $\alpha 3$, es estructuralmente homóloga a un dominio Ig y no varía en todas las moléculas de clase I.

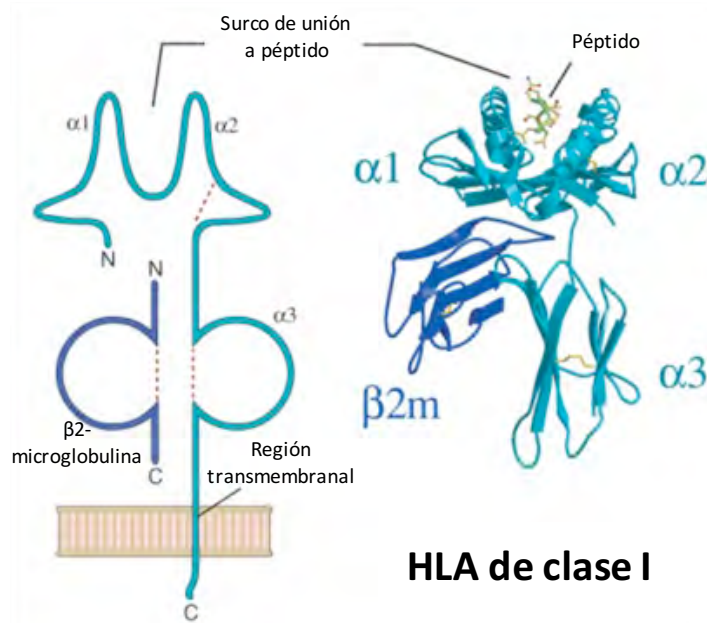


Figura 16. Estructura de las moléculas HLA de clase I.

El diagrama de la izquierda ilustra las diferentes regiones de la molécula HLA de clase I (no en escala). Las moléculas HLA clase I están compuestas de una cadena polimórfica α unida no covalentemente a una β_2 -microglobulina no polimórfica. Se observa que los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ contienen un sitio de unión a péptido; el dominio $\alpha 3$ está unido no covalentemente a β_2 -microglobulina; una región hidrofóbica que atraviesa la membrana; y una pequeña cola intracitoplasmática carboxilo terminal. El diagrama de cintas (derecha) muestra la estructura de la porción extracelular de una molécula HLA-B*27 unida a un péptido (cristalografía de rayos X). Tomada y modificada de la referencia¹⁹⁶.

En cuanto a las moléculas de clase II, los genes A tienen cinco exones y los genes B seis exones. En ambos genes el exón 1 contiene la región 5'UT y la secuencia que contiene el péptido señal; el exón 2 codifica para el dominio $\alpha 1$ (genes A) o el $\beta 1$ (genes B), estos dominios contribuyen a la región de unión del péptido; el exón 3 codifica para los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$; los exones restantes codifican para el péptido de conexión, la región transmembranal y citoplásmica. Las moléculas MHC clase II están compuestas por dos cadenas polipeptídicas asociadas de forma no covalente, una cadena alfa de 32 a 34kDa y una cadena beta de 29 a 32kDa (Figura 17).

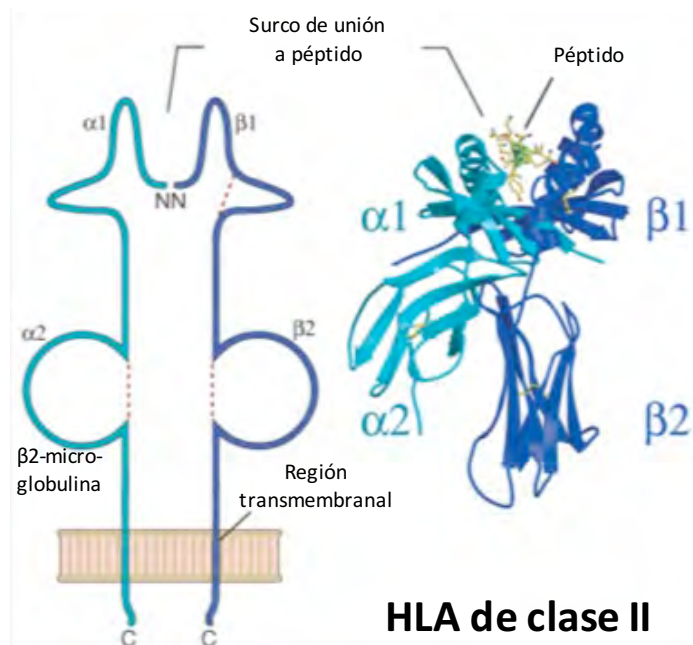


Figura 17. Estructura de las moléculas HLA de clase II.

La figura de la izquierda ilustra las diferentes regiones de una molécula MHC clase II. Las moléculas MHC clase II están compuestas por una cadena polimórfica α unida no covalentemente a una cadena polimórfica β . Ambas cadenas están glicosiladas (no se muestran los residuos de carbohidratos). El diagrama de listón (derecha) muestra la estructura de la porción extracelular de una molécula *HLA-DR1* unida a un péptido (cristalografía de rayos X). Tomada y modificada de la referencia¹⁹⁶.

A diferencia de las moléculas clase I, ambas cadenas están codificadas por genes polimórficos del MHC. Los segmentos amino terminales $\alpha 1$ y $\beta 1$ de las cadenas clase II interactúan para formar la hendidura de unión a péptidos, que es similar desde el punto de vista estructural a las moléculas clase I (Figura 18). Cuatro hebras del suelo de la hendidura y una de las hélices están formadas por $\alpha 1$, mientras que las otras cuatro hebras del suelo y la segunda hélice están formadas por $\beta 1$. Los residuos variables están localizados en $\alpha 1$ y $\beta 1$, en el interior y alrededor de la hendidura de unión a péptidos. En las cadenas clase II la mayor parte de los polimorfismos se encuentran en la cadena beta (Figura 19). El sitio de unión a péptidos se encuentra abierto en sus extremos, de manera que pueden entrar péptidos de 30 residuos o más.

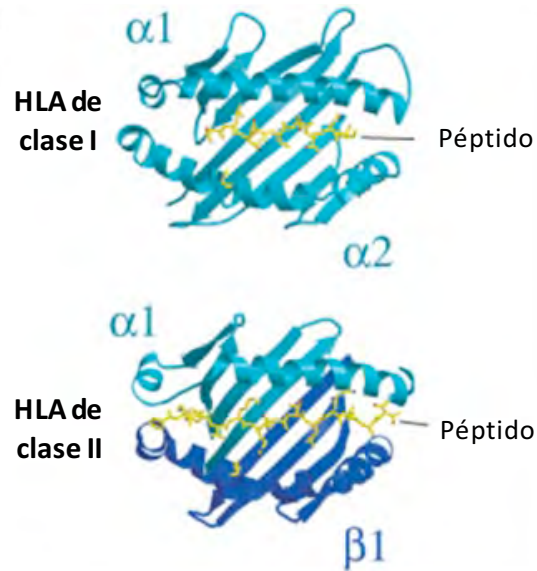


Figura 18. Dominio de unión a péptido de las moléculas HLA de clase I y II.

Se muestran las estructuras de listón basados en cristalografía de las moléculas HLA de clase I (figura superior) y clase II (figura inferior) y el péptido (en amarillo) descansando sobre el suelo de las hendiduras o surcos. El péptido muestra residuos de reconocimiento a los receptores TCR de los linfocitos T. La molécula de clase I que se observa es *HLA*A02* y la molécula de clase II es *HLA*DR1*. Se observa que la hendidura de la molécula de clase I está cerrada, mientras que la de clase II se encuentra abierta. Como resultado las moléculas de clase II acomodan péptidos más grandes que las de clase I. Tomada y modificada de la referencia¹⁹⁶.

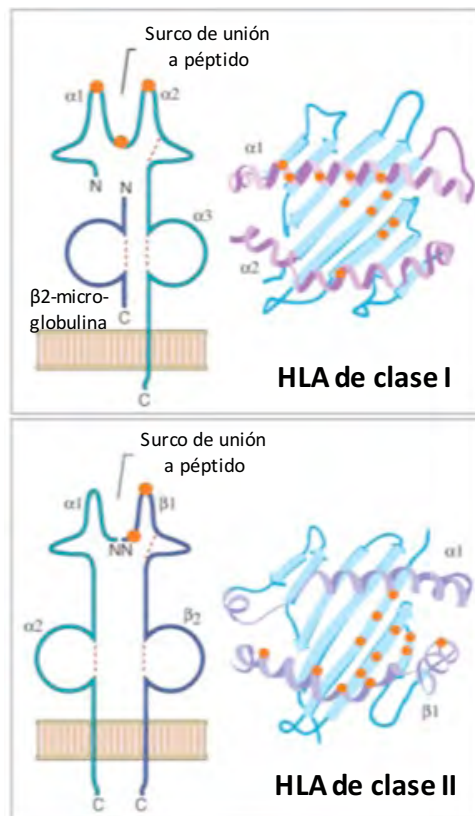


Figura 19. Residuos polimórficos de las moléculas HLA de clase I y II.

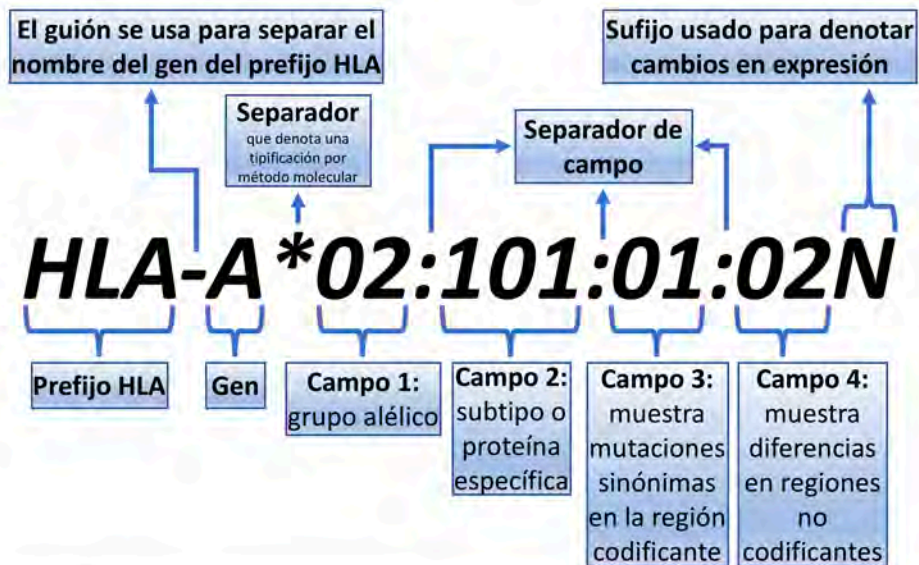
Los residuos polimórficos de las moléculas HLA de clase I y II (que se muestran en puntos naranjas) se localizan en las hendiduras de unión a péptidos y en las hélices alfa alrededor de las hendiduras. En la molécula de clase II representada (*HLA-DR*), básicamente todo el polimorfismo se encuentra en la cadena beta. Sin embargo, otras moléculas de clase II presentan diversos grados de polimorfismo en la cadena alfa y normalmente mucho más en la cadena beta. Tomada y modificada de la referencia¹⁹⁶.

2.5.5 Nomenclatura de los genes HLA

Al principio de su estudio, se reconoció que los genes que codifican a las moléculas HLA eran altamente polimórficas y que existía una necesidad de un sistema de nomenclatura. El nombramiento de nuevos genes HLA, secuencias de alelos y su control de calidad es responsabilidad del Comité de Nomenclatura para Factores del Sistema HLA de la Organización Mundial de la Salud (*WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System*). Este comité se reunió por primera vez en 1968 y estableció los criterios para las reuniones sucesivas. El comité se reúne regularmente para discutir cuestiones de nomenclatura y ha publicado 19 informes principales que documentan los antígenos HLA, y más recientemente, los genes y los alelos. La estandarización de las especificaciones antigénicas HLA se ha controlado mediante el intercambio de reactivos de tipificación y células en los talleres Internacionales de Histocompatibilidad (*International Histocompatibility Workshops*)²⁰³. En el sistema HLA, cada nombre asignado a un alelo tiene un número único que corresponde a hasta cuatro conjuntos de dígitos denominados campos (*fields*) HLA separados por dos puntos (:). La longitud de la designación del alelo depende de la secuencia del alelo y la de su pariente más cercano. Todos los alelos tienen al menos un nombre de cuatro dígitos, que corresponde a los primeros dos conjuntos de dígitos, los nombres más largos sólo se asignan cuando es necesario²⁰⁴. Los nombres de genes HLA y de alelos o proteínas específicas siempre se denotan en cursivas

Los dígitos antes del primer ":" describen el tipo HLA (primer campo HLA o grupo alélico) que a menudo corresponde al antígeno serológico portado por un alelo. El siguiente conjunto de dígitos se usa para enumerar a los subtipos, y los números se asignan en el orden en que se han determinado las secuencias de DNA. Los alelos cuyos números difieren en los dos primeros conjuntos de dígitos (o primeros dos campos) deben diferir en una o más sustituciones de nucleótidos que cambian la secuencia de aminoácidos en la proteína traducida. Los alelos que difieren sólo por sustituciones sinónimas de nucleótidos (también llamadas sustituciones silenciosas o no codificantes) dentro de la secuencia del nombre se distinguen por el uso de un tercer conjunto de dígitos (tercer campo HLA). Los alelos que sólo difieren por polimorfismos en los intrones o en las regiones 5' o 3' (no traducidas) que flanquean los exones y los intrones, se distinguen por el uso del cuarto conjunto de dígitos (o cuarto campo en la nomenclatura HLA) (ver Figura 20)²⁰⁴.

Además del número único de alelos, existen sufijos opcionales que se pueden agregar a un alelo para indicar su estado de expresión. Los alelos que se ha demostrado que no se expresan (alelos nulos) reciben el sufijo “N”. Los alelos que se ha demostrado que se expresan alternativamente pueden tener el sufijo “L”, “S”, “C”, “A” o “Q”. El sufijo “L” se usa para indicar que un alelo tiene una expresión baja (“Low”, en inglés) en la superficie celular en comparación con los niveles normales. El sufijo “S” se usa para denotar que un alelo se traduce en una proteína soluble secretada, pero que no está presente en la superficie celular. El sufijo “C” se asigna a los alelos que producen proteínas que están presentes en el citoplasma y no en la superficie celular. Un sufijo “A” indica una expresión “Aberrante” en la que existe la duda sobre si realmente se expresa una proteína. Se usa un sufijo “Q” cuando la expresión de un alelo es cuestionable (*questionable*, en inglés), dado que la mutación observada en el alelo ha demostrado que afecta los niveles de expresión normales en otros alelos (Figura 20). Hasta marzo del 2017, ningún alelo ha sido nombrado con los sufijos “C” o “A”²⁰⁴.



| Nomenclatura | Denota o significa |
|---------------------------|--|
| HLA | La región HLA o el prefijo para un gen HLA |
| <i>HLA-DRB1</i> | Un locus HLA en particular, por ejemplo <i>DRB1</i> |
| <i>HLA-DRB1*13</i> | Un grupo de alelos que codifican para el antígeno <i>DRB13</i> o grupo alélico <i>DRB1*13</i> |
| <i>HLA-DRB1*13:01</i> | Un alelo específico HLA, con dos campos también puede denotar una proteína específica |
| <i>HLA-DRB1*13:01:02</i> | Un alelo que difiere por una mutación sinónima de <i>DRB1*13:01:01</i> |
| <i>HLA-A*24:09N</i> | Un alelo nulo ("Null"), es decir, un alelo que no se expresa. |
| <i>HLA-A*30:14L</i> | Una alelo que codifica una proteína con expresión sobre la superficie celular reducida ("Low"). |
| <i>HLA-A*24:02:01:02L</i> | Una alelo que codifica una proteína con expresión sobre la superficie celular reducida ("Low"), en donde la mutación se encuentra fuera de la región codificante |
| <i>HLA-B*44:02:01:02S</i> | Un alelo que codifica a una proteína que se expresa solamente como una molécula secretada ("Secreted") |
| <i>HLA-A*32:11Q</i> | Un alelo que tiene una mutación que previamente se ha demostrado que tiene un efecto significativo en la expresión sobre la superficie celular, pero cuando esto no se ha confirmado su expresión sigue siendo cuestionable ("Questionable") |

Figura 20. Nomenclatura HLA.

Figura modificada y traducida del sitio web de la base de datos IPD-IMGT/HLA, URL: <http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>. (ver referencia²⁰⁴).

2.5.6 Expresión y regulación de los genes HLA

Los genes de clase I (*loci HLA-A, HLA-B y HLA-C*) se expresan en la mayoría de las células somáticas adultas. Sin embargo, algunas excepciones ocurren en células como las neuronas, células del páncreas exocrino, células del miocardio, espermatozoides en ciertas etapas del desarrollo, ciertas células de la placenta, óvulos no fecundados y células de embriones recién formados. Entre todas las células somáticas, los linfocitos T y B expresan niveles altos de moléculas HLA de clase I. Dicha expresión puede aumentar o disminuir por el estímulo de factores como las infecciones virales o citocinas del contexto extracelular¹⁹⁶. La expresión de los genes HLA de clase I está regulada por secuencias "corriente arriba" (up stream) de la región codificante. Estas secuencias

cortas, llamadas motivos o cajas, son sitios en donde se unen factores de transcripción encargadas de iniciar la transcripción de mensajeros de RNA¹⁹⁶.

Los genes HLA se heredan juntos en bloque o haplotipos (término derivado de haploide), por lo que cada individuo tiene una combinación de genes que se heredaron del padre y otra combinación heredada de la madre. La recombinación puede existir a muy bajos niveles (<1% de los casos). Como consecuencia de lo anterior, en distintas poblaciones determinados alelos HLA presentes en diferentes *loci* se heredan conjuntamente con más frecuencia de lo esperado por una asignación al azar (por ejemplo, por herencia mendeliana, en donde la segregación de cada gen es independiente), este fenómeno se denomina desequilibrio de ligamiento (LD o *linkage disequilibrium*). En genética de poblaciones, el desequilibrio de ligamiento es la asociación no azarosa de alelos de diferentes *loci* en una población dada. Se dice que dos o más *loci* están en desequilibrio de ligamiento cuando la frecuencia de asociación de los diferentes alelos es más alta o baja de lo que se esperaría si los *loci* se heredaran independientemente y de manera azarosa. El LD entre los genes HLA juega un papel muy importante en la búsqueda de asociaciones HLA con la progresión a la enfermedad o en la búsqueda de epítomos restringidos por cierto HLA (objetivos principales de esta tesis doctoral).

De igual manera, los genes HLA se expresan de forma codominante en cada individuo, es decir, cada persona expresa todos los alelos HLA heredados de ambos padres (Figura 21). Para los individuos, esto eleva al máximo el número de moléculas HLA disponibles para unir distintos péptidos para su presentación a los linfocitos T.

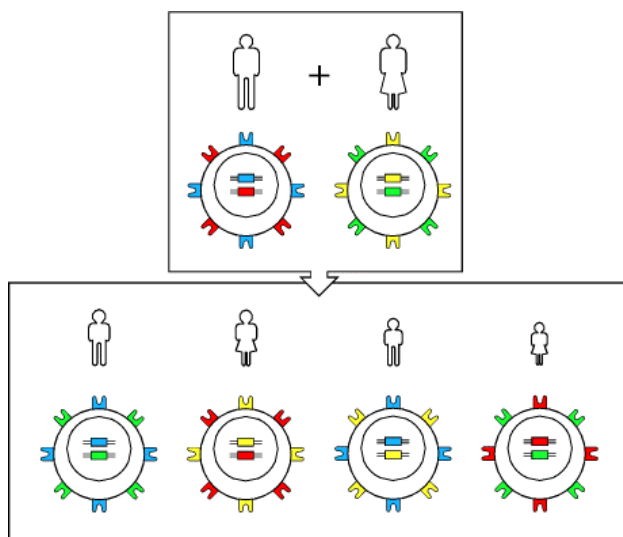


Figura 21. Los genes HLA se heredan en haplotipos.

Los genes HLA se segregan en bloque o haplotipo, esto da como resultado que cada uno de la progenie tenga una de las posibles combinaciones de los haplotipos paternos. De igual manera, todos los alelos HLA son expresados de forma codominante. Tomada de la referencia¹⁹⁸.

2.5.7 Polimorfismo genético de los genes HLA

Los genes HLA son los genes más polimórficos descritos hasta el momento, en particular el *locus HLA-B* tiene el mayor número de variantes del genoma humano^{196,205}. Una situación que se repite en algunos genes polimórficos es que uno o dos alelos se encuentran en mayor frecuencia y los demás alelos se encuentran presentes en poca frecuencia. Sin embargo, el gran polimorfismo de los *loci* HLA se caracteriza por la enorme cantidad de alelos de cada *loci* y porque muchos de estos alelos se encuentran con frecuencias similares. Cada día se reportan nuevas variantes HLA en las diferentes poblaciones del mundo, en la Figura 22 se muestran el número de alelos nombrados cada año desde 1987 y hasta el mes de diciembre del 2017.

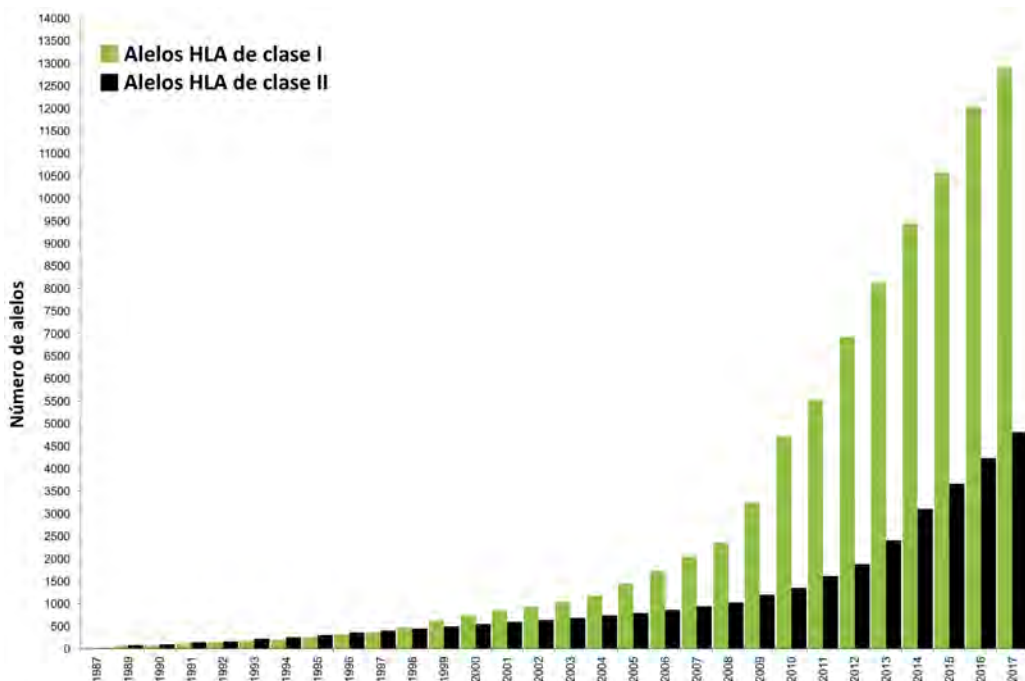


Figura 22. Alelos HLA descubiertos entre 1987 y 2017.

Gráfica que muestra el número de alelos nombrados por base de datos IPD-IMGT/HLA desde 1987 hasta el mes de diciembre del 2017. Imagen modificada y traducida del sitio web URL: <http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>. (referencia²⁰⁴).

De acuerdo con la base de datos IPD-IMGT/HLA al mes de diciembre del 2017, se conocen 12,893 alelos HLA de clase I y 4,802 alelos HLA de clase II. Como se mencionó antes el *locus HLA-B* presenta el mayor polimorfismo conocido para un gen humano, siendo más específicos, se han reportado 4,950 alelos distintos (los cuales codifican para 3582 proteínas distintas) para el *locus HLA-B*, en comparación con 4,081 alelos distintos (2,853 proteínas) reportados para el *locus HLA-A* y 3,685 alelos (2,550 proteínas) del *locus HLA-C*. En la Tabla 4 se muestra la diversidad de alelos, proteínas y alelos nulos descrito para los alelos HLA de clase I, clase II y de alelos no HLA dentro del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés).

Tabla 4. Resumen de alelos, proteínas y nulos distintos de los loci HLA.

| Número de alelos HLA distintos | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|------|------|-----|--------|-----|
| Alelos HLA de clase I | | | | | | | | | | | 12,893 | |
| Alelos HLA de clase II | | | | | | | | | | | 4,802 | |
| Alelos HLA totales | | | | | | | | | | | 17,695 | |
| Otros alelos no HLA | | | | | | | | | | | 179 | |
| HLA de clase I | | | | | | | | | | | | |
| Gen | A | B | C | E | F | G | | | | | | |
| Alelos | 4,801 | 4,950 | 3,685 | 27 | 30 | 58 | | | | | | |
| Proteínas | 2,853 | 3,582 | 2,550 | 8 | 5 | 18 | | | | | | |
| Nulos | 191 | 148 | 137 | 1 | 0 | 3 | | | | | | |
| HLA de clase II | | | | | | | | | | | | |
| Gen | DRA | DRB | DQA1 | DQB1 | DPA1 | DPA2 | DPB1 | DPB2 | DMA | DMB | DOA | DOB |
| Alelos | 7 | 2,440 | 94 | 1,178 | 64 | 5 | 963 | 6 | 7 | 13 | 12 | 13 |
| Proteínas | 2 | 1,779 | 35 | 795 | 36 | 2 | 668 | 3 | 4 | 7 | 3 | 5 |
| Nulos | 0 | 69 | 3 | 31 | 0 | 0 | 24 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| HLA de clase II – alelos DRB | | | | | | | | | | | | |
| Gen | DRB1 | DRB2 | DRB3 | DRB4 | DRB5 | DRB6 | DRB7 | DRB8 | DRB9 | | | |
| Alelos | 2,146 | 1 | 152 | 74 | 55 | 3 | 2 | 1 | 6 | | | |
| Proteínas | 1,548 | 0 | 125 | 57 | 49 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| Nulos | 52 | 0 | 5 | 9 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| Otros genes no HLA | | | | | | | | | | | | |
| Gen | HFE | MICA | MICB | TAP1 | TAP2 | | | | | | | |
| Alelos | 6 | 107 | 42 | 12 | 12 | | | | | | | |
| Proteínas | 4 | 82 | 28 | 6 | 5 | | | | | | | |
| Nulos | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | | | | | | | |

Tabla modificada y traducida de la base de datos IPD-IMGT/HLA, URL:<http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>, referencia²⁰⁴. Datos actualizados hasta marzo del 2018.

2.6 Optimización de matrices de péptidos para identificar antígenos de VIH restringidos por linfocitos T

La amplitud de las respuestas de células T CD8+ citotóxicas (CTLs) específicas de antígeno a un patógeno o vacuna pueden medirse mapeando epítomos de células T. El mapeo de epítomos se realiza en general usando una evaluación funcional después de la estimulación con péptidos sobrelapados (o mezclas de los mismos) de una proteína dada y, presumiblemente, abarca todos los posibles epítomos de CTLs²⁰⁶⁻²⁰⁸. Sin embargo, para patógenos completos (por ejemplo, para el proteoma completo del VIH) esto se traduce en cientos de péptidos que requieren grandes cantidades de células para ensayos individuales o una estrategia compleja para mezclar los péptidos para reducir la cantidad de muestra requerida para mapear los epítomos²⁰⁹⁻²¹². Se ha descrito un método optimizado para la construcción de matrices de péptidos agrupados o mezclados que permiten la identificación de respuestas de células T específicas de un conjunto de varios cientos de péptidos

sobrelapados^{213,214}. La definición de los péptidos que despiertan una respuesta es un proceso de dos pasos. En el primer paso, en el que se prueba la muestra (células del donante) con todos los conjuntos o pools de péptidos, se usa para eliminar los péptidos que no se reconocen (es decir, una respuesta negativa a un conjunto de 80 péptidos descarta a los 80 péptidos como posibles candidatos). Después de esta primera ronda de ensayos, todavía existe una considerable ambigüedad en cuanto qué péptidos son respuestas reales y qué péptidos no pudieron eliminarse porque estaban en pools que contenían otros péptidos positivos. Por lo tanto, durante la segunda ronda cada péptido positivo posible se prueba individualmente para determinar las repuestas verdaderas. El objetivo en la deconvolución optimizada es usar la cantidad mínima de muestra en ambas rondas. Una vez que se ha resuelto una respuesta, se requieren experimentos adicionales para mapear la secuencia del epítipo óptimo (secuencia mínima de aminoácidos que respuesta la respuesta máxima), la restricción del HLA y el subtipo de células T de la respuesta de cada péptido.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los polimorfismos de los loci del antígeno leucocitario humano (HLA) de clase I (*HLA-A*, *-B* y *-C*) son el factor genético del hospedero más fuertemente asociado con la progresión a la enfermedad por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)^{186,187,195,215}. Sin embargo, aunque las asociaciones entre las variantes de HLA sobre la progresión a la enfermedad por VIH han sido estudiadas extensivamente en poblaciones caucásicas infectadas con el subtipo B de VIH así como poblaciones africanas infectadas con los subtipos A, C y D de VIH^{105,117,121,124,134,135,151,187,195,216-230}, las poblaciones de mestizos o aquellas que exhiben una mezcla ancestral de componentes amerindios, europeos y africanos permanecen sin estudiarse en este contexto. Las poblaciones de Mesoamérica (México y Centroamérica) poseen un contexto inmunogenético único como resultado de la mezcla de haplotipos HLA de origen caucásico y típicamente amerindios^{231,232}, haciendo estas poblaciones ideales para la identificación de nuevos correlatos con variantes HLA con el control del VIH. En este estudio buscamos asociaciones con variantes HLA con respecto a cinco parámetros clínicos de VIH en una cohorte de mestizos infectados por subtipo B de VIH-1, vírgenes a tratamiento antirretroviral de México (cohorte MEX, n=1679) y de 6 países de Centroamérica: Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Panamá (cohorte CAM, n=1534). Primero caracterizamos el notable contexto inmunogenético de esta cohorte mestiza (cohorte combinada MEX/CAM) al comparar las frecuencias alélicas (FA) y las estructuras de haplotipos (desequilibrio de ligamiento, *LD [linkage disequilibrium]*, por sus siglas en inglés) de los loci HLA de clase I con las de una cohorte principalmente caucásica de la Columbia Británica, Canadá (cohorte de referencia HOMER, n=1622^{233,234}). Después definimos alelos HLA de clase I asociados a la protección/riesgo en las cohortes individuales (cohortes MEX y CAM) así como la cohorte combinada (MEX/CAM) utilizando un enfoque novedoso que puntúa o califica a los subtipos HLA en función de sus asociaciones con los cinco parámetros clínicos interrelacionadas relevantes para la progresión a la enfermedad por VIH, ajustados para los factores confusores (incluyendo el desequilibrio de ligamiento HLA y la coexpresión de alelos HLA protectores y de riesgo). Además, exploramos hasta qué punto los alelos HLA protectores/riesgo observados en las cohortes MEX y CAM son universales o específicos de la región. Adicionalmente, evaluamos las complejidades aditivas HLA en la cohorte combinada MEX/CAM y estimamos el efecto de los alelos *HLA-B*35* y los grupos *B*35-PX/PY* en la progresión a la enfermedad por VIH. Finalmente, caracterizamos los epítomos restringidos por los alelos *B*39* en una proteína viral y realizamos una prueba de concepto para detectar respuestas de CTLs sobre todo el proteoma de VIH utilizando la estrategia de mezclas (*pools*) de péptidos basados en matrices complejas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Caracterizar el impacto de los subtipos HLA de clase I (*loci HLA-A, -B y -C*) sobre la progresión a la enfermedad por VIH en una gran cohorte mestiza de México y 6 países de Centroamérica (Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Panamá, cohorte MEX/CAM, n=3213) que exhibe un notable contexto inmunogenético único al presentar una mezcla ancestral de componentes amerindios, europeos y africanos.

4.2 Objetivos particulares

- Caracterizar el notable contexto inmunogenético de la cohorte mestiza MEX/CAM al comparar las frecuencias alélicas y los haplotipos HLA de clase I con las de una cohorte de referencia esencialmente caucásica de la Columbia Británica, Canadá (cohorte HOMER).
- Definir los alelos HLA de clase I asociados al control del VIH (asociaciones HLA-VIH de protección y riesgo) utilizando un enfoque novedoso que puntúa o califica a los subtipos HLA en función de sus asociaciones con los 5 parámetros clínicos relevantes para la progresión a la enfermedad por VIH, ajustando para factores confusores (por ejemplo, variables demográficas, coexpresión de alelos HLA de protección o riesgo y desequilibrio de ligamiento HLA).
- Comparar los puntajes (score) de las asociaciones HLA-VIH de 5 parámetros clínicos con los puntajes basados sólo en la CVp y el conteo de CD4 (puntaje de 2 parámetros), con el objetivo de hacer comparable nuestro estudio con los descritos previamente.
- Explorar hasta qué punto los alelos HLA protectores/riesgo observados en las cohortes MEX y CAM son universales o específicos de la región.
- Evaluar las complejidades aditivas HLA en la cohorte MEX/CAM, incluyendo el efecto aditivo de los alelos HLA protectores y de riesgo, los efectos dependientes de frecuencia HLA, y la ventaja de los heterocigotos HLA.
- Evaluar el impacto de los alelos *HLA-B*35* y los grupos *B*35-PX/PY* sobre la progresión a la enfermedad por VIH en la cohorte MEX/CAM.
- Caracterizar los epítomos de Nef restringidos por los alelos *HLA-B*39* mediante ensayos de EliSpot y mediante programas de búsqueda de motivos de reconocimiento (Motif Scan).
- Optimizar una matriz de péptidos de todas las proteínas virales para medir respuestas a lo largo de todo el proteoma de VIH.

5. HIPÓTESIS

El contexto inmunogenético único de la población de Mesoamérica (México y Centroamérica: Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Panamá) caracterizado por la mezcla de haplotipos HLA de origen caucásico, típicamente amerindios y africanos permitirá identificar nuevos correlatos entre los subtipos HLA de clase I y el control del VIH.

6. MÉTODO

6.1 Declaración ética

El reclutamiento y el estudio de las cohortes de México (MEX) y de Centroamérica (CAM) fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) en la Ciudad de México (protocolos E02-05, E10-10 y E06-09). Todos los participantes fueron adultos (>18 años) y dieron consentimiento informado por escrito de acuerdo con la Declaración de Helsinki antes de la donación de muestra sanguínea. El análisis de la cohorte de referencia HOMER (Columbia Británica, Canadá) fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de *Providence Health Care* y por la Universidad de la Columbia Británica (*British Columbia University*). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito y/o los datos se anonimizaron mediante los procedimientos aprobados por REB (*Research Ethics Board*).

6.2 Cohortes de México y de Centroamérica

Tres mil doscientos y trece individuos infectados por subtipo B de VIH-1, vírgenes a tratamiento antirretroviral de México y 6 (de los 7) países de Centroamérica (Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Panamá; Costa Rica no participó) fueron reclutados mediante muestreo por conveniencia del año 2000 al 2016 como parte de un estudio internacional multicéntrico y transversal de investigación para evaluar la epidemiología molecular de VIH, la prevalencia de la resistencia a fármacos antirretrovirales y la adaptación del VIH a los *loci* HLA en Mesoamérica (México y Centroamérica). Los individuos fueron reclutados y donaron una sola muestra sanguínea al tiempo de diagnóstico de VIH o en las visitas subsecuentes en las clínicas participantes antes de iniciar tratamiento antirretroviral (TAR) de acuerdo a las pautas nacionales de inicio de TAR. A cada persona elegible (infectada por VIH y sin exposición previa a TAR) que asistía a cada clínica participante se le ofreció la oportunidad de participar en el estudio durante los periodos de reclutamiento activo. No se aplicaron criterios de exclusión adicionales a excepción de la exposición previa a TAR. Los sujetos fueron reclutados por muestreo por conveniencia en una red nacional de colaboración con clínicas de VIH en México (cohorte MEX,

n=1679) de 23 de los 32 estados mexicanos incluyendo: Baja California, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Ciudad de México, Colima, Estado de México, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tlaxcala, Veracruz y Yucatán. De Centroamérica (cohorte CAM) fueron reclutados 1534 individuos utilizando muestreo por conveniencia, incluyendo a 418 individuos Guatemala, 102 de Belice, 42 de El Salvador, 402 de Honduras, 254 de Nicaragua y 316 de Panamá. Las instituciones participantes de Centroamérica incluyen, Guatemala: Hospital Roosevelt, Ciudad de Guatemala (centro de referencia nacional)²³⁵; Belice: Ministro de Salud (*Ministry of Health*), Belmopan; El Salvador: Hospital Nacional Rosales, San Salvador; Honduras: Hospital Universidad Escuela, Tegucigalpa; Instituto Nacional Cardio-Pulmonar, Tegucigalpa; Hospital Mario Catarino Rivas, San Pedro Sula; Hospital Atlántida, La Ceiba; Hospital del Sur, Choluteca (cinco de las clínicas de VIH más grandes del país)²³⁶; Nicaragua: Hospital Roberto Calderón, Managua (el centro de referencia más grande del país)²³⁷; Panamá: Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Ciudad de Panamá (centro de referencia nacional)²³⁸. Los datos demográficos de los individuos reclutados para este estudio fueron obtenidos aplicando un cuestionario al momento de la donación de muestra. Las muestras sanguíneas, los consentimientos informados y los cuestionarios demográficos fueron enviados al Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas (CIENI) del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) de la Ciudad de México dentro de las siguientes 72 horas a su recolección. El CIENI es un laboratorio designado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el genotipo de VIH, que cumple con los requisitos de procedimiento e infraestructura para las buenas prácticas de laboratorio y que aseguran la calidad. Los resultados clínicos de VIH (prueba basal de resistencia a TAR, carga viral plasmática de VIH y los conteos de T CD4) fueron enviados a los diferentes estados mexicanos o los países en Centroamérica para el seguimiento clínico de los individuos participantes.

6.3 Cohorte de referencia HOMER

La cohorte HOMER (*HAART [Highly Activated Antiretroviral Therapy] Observational Medical Evaluation and Research cohort*) de la Columbia Británica, Canadá, es una cohorte histórica (retrospectiva y observacional) que incluye a individuos infectados por VIH no expuestos previamente a TAR (reclutados desde 1996), que fue usada como referencia para la comparación de FA HLA y para la comparación de asociaciones HLA y el parámetro de carga viral de VIH. Para este fin, se utilizaron las mediciones de parámetros clínicos disponibles más tempranas antes del inicio de TAR. Esta cohorte es de origen predominantemente caucásico (se estima >60%) y con un genotipo de >90% del subtipo B de VIH²³⁹; el presente análisis se restringió a sujetos infectados solamente con el subtipo B (n=1622). Como se describió previamente^{233,234}, la mayoría de las variantes HLA de clase I fueron

definidos al nivel de resolución de subtipo (4 dígitos/segundo campo), los datos restantes a resolución intermedia fueron imputados a alta resolución (subtipo/segundo campo) usando un algoritmo de aprendizaje automático entrenado en subtipos *HLA-A*, *-B* y *-C* de más de 13,000 individuos con grupo étnico conocido²⁴⁰. Las cargas virales plasmáticas (CVp) de VIH de la cohorte HOMER se realizaron con el ensayo *Roche Amplicor Monitor*.

6.4 Subtipificación de VIH

El subtipo de VIH fue determinado utilizando *REGA HIV Subtyping Tool* (versión 3.0; <http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/>) y fue confirmada con *Recombination Identification Program*²⁴¹ (RIP, www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RIP/RIP.html) utilizando las secuencias del gen pol (proteasa y transcriptasa inversa) de VIH obtenidas como se describió previamente²³⁵. Los análisis del presente trabajo se limitaron a aquellos sujetos infectados por el subtipo B de VIH-1.

6.5 Parámetros clínicos de VIH

La carga viral de VIH fue determinada mediante reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*, por sus siglas en inglés) en tiempo real automatizada utilizando el equipo *m2000 system* (Abbott, Abbott Park, IL, USA) con un límite de detección de 40 copias de RNA de VIH/ml. Los conteos de células CD45+, CD3+, CD4+ y CD8+ fueron obtenidos mediante citometría de flujo con el estuche de reactivos Trucount en un instrumento FACSCanto II (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

6.6 Tipificación de los *loci* HLA de clase I

Las células mononucleares de sangre periférica (*PBMCs*, por sus siglas en inglés) fueron separadas mediante gradiente de centrifugación (Ficoll-Paque Pharmacia, Uppsala, SE) de sangre periférica de la cohorte MEX y *buffy coats* (región enriquecida con leucocitos generada por centrifugación) se separaron de las muestras de la cohorte CAM, las cuales se criopreservaron (-20°C) hasta la extracción de DNA. El DNA genómico total fue extraído de las *PBMCs* (~6 millones de células) o de los *buffy coats* (200µl) utilizando el estuche de reactivos QIAmp Blood Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA) usando las especificaciones del fabricante. Los genes de clase I *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C* fueron tipificados a alta resolución (nivel de segundo campo/4-dígitos/subtipo) utilizando un protocolo modificado previamente descrito en la literatura²⁴². Brevemente, se realizó una PCR anidada utilizando iniciadores (*primers*) universales específicos para cada *loci* HLA para amplificar una región de ~1000 pares de bases que incluyen los exones 2 y 3 (que codifican para el sitio de unión a péptido [dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$])

de los genes *HLA-A*, *-B* y *-C*, utilizando la mezcla de Expand High Fidelity PCR system (Roche Applied Science, Laval, PQ) (3.5 U/μL). Para las reacciones de PCR de *locus HLA-A*, se añadió 5% de dimetil sulfoxido (DMSO, Sigma-Aldrich, St Louis, MO) para disminuir la amplificación inespecífica y evitar la dimerización de iniciadores. Los productos de PCR del *locus HLA-B* fueron purificados con la enzima ExoSAP-IT (Affimetrix, Cleveland, OH) y los productos de PCR de los *loci HLA-A* y *HLA-C* fueron diluidos (1:10) y secuenciados directamente utilizando 6 pares de iniciadores por *locus* como se describió anteriormente⁴² en el secuenciador capilar 3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) utilizando la química de BigDye Terminator v3.1 (Life Technologies, Carlsbad, CA). Las secuencias fueron cortadas con el software Sequencing Analysis v5.4 (Applied Biosystems) y los subtipos HLA fueron asignados utilizando el software UType v7.1 RUO (Applied Biosystems) con la base de datos actualizada de IPD-IMGT/HLA (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>). Utilizando este flujo de trabajo para asignar alelos pueden surgir asignaciones ambiguas debido a la presencia de polimorfismos fuera de la región analizada (exones 2 y 3). Para estos casos, los pares HLA ambiguos se manejaron como grupos G, incluyendo: *A*74:01:01G* (*A*74:01* en el texto de este escrito, incluye a *A*74:01* y *A*74:02*; los cuales difieren entre sí en exón 1), *C*18:01:01G* (*C*18:01* en el texto, incluye a *C*18:01* y *C*18:02*; los cuales difieren entre sí en exón 5), *C*17:01:01G* (*C*17:01* en el texto, incluye a *C*17:01*, *C*17:02* y *C*17:03*; los cuales difieren entre sí en los exones 1 y 5). Las asignaciones ambiguas HLA también pueden surgir debido a la falta de resolución de fase gamética como resultado de la secuenciación poblacional de dos variantes (secuenciación directa o *bulk sequencing*) en los productos de PCR. Considerando sólo las ambigüedades HLA que afectan el primer (grupo alélico) y el segundo campo HLA (subtipo específico) y que incluían dos alelos comunes o un alelo común y un alelo bien documentado del catálogo de alelos HLA comunes y bien documentados (*Common and Well-documented catalogue*²⁴³), un total de 142 pares del *HLA-A*, 161 de *HLA-B* y 104 de *HLA-C* resultaron ambiguos dada la falta de resolución de fase (Tabla Suplementaria S 1). Dichas ambigüedades HLA fueron resueltas al asignar la combinación más probable utilizando los datos de las frecuencias alélicas HLA, así como los desequilibrios de ligamiento (*linkage disequilibrium*, LD, por sus siglas en inglés) de los alelos HLA de la misma cohorte de estudio. Todos los haplotipos HLA fueron confirmados utilizando la misma herramienta probabilística previamente publicada que se utilizó para la cohorte HOMER²⁴⁰ (HLA Completion web tool, <http://boson.research.microsoft.com/hla/>). Sólo 72 pares de subtipos (de 6392, 1.12%) *HLA-A* o *HLA-C* faltantes o incompletos debido al fallo de amplificación en la PCR (o en la secuenciación) o por la no disponibilidad de muestra fueron imputados usando esta misma herramienta. Los alelos *HLA-B* no resueltos (23/3213 pares, 0.71%) fueron considerados como datos faltantes o perdidos (*missing values*) en la base de datos. Como se ha descrito previamente²⁴⁴, nuestra metodología de tipificación HLA fue validada con un 99.9% de precisión en

poblaciones mestizas al comparar los subtipos HLA asignados (secuenciado sólo exones 2 y 3) con los obtenidos mediante la amplificación de los exones 1 al 8 (para *HLA-A* y *HLA-C*) y los exones 1 al 7 (para *HLA-B*) seguido por secuenciación de siguiente generación (TruSight HLA v2 Sequencing Panel, Illumina, San Diego, CA) de una cohorte independiente de individuos mexicanos (n=323).

6.7 Análisis de desequilibrio de ligamiento HLA

Se evaluó el desequilibrio de ligamiento (LD, por sus siglas en inglés) entre los pares de alelos HLA usando la herramienta HLA Analysis de la base de datos de Inmunología Molecular de VIH de los Alamos (<https://www.hiv.lanl.gov>), que emplea la corrección Bonferroni para abordar las múltiples comparaciones. Para el análisis de LD de la cohorte MEX, 12,970 comparaciones (tablas de contingencia de 2x2) fueron realizadas ($p < 3.9E-06$ fueron consideradas como significativas), y para el análisis de LD de la cohorte CAM 14,234 comparaciones (tablas de contingencia de 2x2) fueron realizadas ($p < 3.5E-06$ fueron consideradas como significativas). La herramienta visual para variables multidimensionales llamada Disentangler²⁴⁵ fue utilizada para graficar las estructuras de haplotipos HLA de clase I de ambas cohortes (Figura 24).

6.8 Comparación de frecuencias alélicas HLA

Las frecuencias alélicas (FA) HLA fueron calculadas por conteo directo de genes (denominador 2n). Todos los subtipos HLA con una FA > 0.001 (en por lo menos una cohorte de la comparación) fueron comparadas usando pruebas exactas de Fisher y las múltiples comparaciones se abordaron usando valores q (el análogo del valor p de la tasa de descubrimiento de falsos [*False Discovery Rate*²⁴⁶]). Las comparaciones con $p < 0.05$ y $q < 0.2$ fueron considerados estadísticamente significativas.

6.9 Análisis univariable y multivariable de las asociaciones HLA y parámetros clínicos de VIH

Se investigaron las asociaciones de alelos HLA con 5 parámetros clínicos de VIH descritos previamente por predecir la progresión a la enfermedad por VIH. Estos incluyeron a la carga viral (CVp)⁷⁴ y el conteo absoluto de los CD4²⁴⁷ (los dos parámetros clínicos utilizados para el seguimiento clínico rutinario de la infección por VIH), así como el porcentaje de CD4²⁴⁸, el cociente o razón CD4/CD8²⁴⁸ y una variable proxy llamada Z-score²⁴⁹ que combina la información del conteo de CD4 y la CVp (utilizada para abordar la desconexión previamente descrita^{216,223} entre las asociaciones de ambos parámetros), calculada como:

$$Zscore = \frac{\left[\frac{CD4 - mediaCD4}{dsCD4} \right] - \left[\frac{pCVp - mediaCVp}{dsCVp} \right]}{2}$$

(ds, desviación estándar), donde valores bajos de CVp y recuentos altos del conteo de CD4 son equivalentes a puntajes altos y positivos del Z-score, y viceversa. Las cohortes MEX y CAM se analizaron por separado y de forma combinada (cohorte combinada MEX/CAM), donde se evaluaron todos los alelos HLA con un mínimo de 5 individuos (representando $FA \geq 0.0015$ y ≥ 0.0008 para las cohortes individuales y combinadas, respectivamente). Esto incluía 147 alelos (42 *HLA-A*, 75 *HLA-B* y 30 *HLA-C*) en el análisis de la cohorte combinada MEX/CAM; 119 alelos (33 *HLA-A*, 59 *HLA-B* y 27 *HLA-C*) en el análisis individual de la cohorte MEX; y 123 alelos (35 *HLA-A*, 60 *HLA-B* y 28 *HLA-C*) en el análisis individual de la cohorte CAM. La prueba U de Mann-Whitney se usó para evaluar las asociaciones entre cada alelo HLA (tratado como variables binarias, por ejemplo, comparando los individuos $B^*57:01^+$ vs. $B^*57:01^-$) y el parámetro clínico de VIH de interés. El análisis univariable fue rehecho usando regresiones lineales (Modelos Lineales Generalizados o GLM, por sus siglas en inglés, Generalized Linear Models) para estimar los tamaños de efecto de las asociaciones HLA-VIH. Las múltiples comparaciones se corrigieron utilizando valores q^{250} , en donde las asociaciones con valores $p < 0.05$ y valores $q < 0.2$ fueron considerados como significativos. Además, establecimos un sistema de puntuación (score HLA-VIH) en donde, para cada alelo HLA investigado, sumamos su número total de asociaciones significativas protectoras o de riesgo (cada una asignada como +1 y -1, respectivamente), de modo que los puntajes finales pueden oscilar entre +5 y -5. A los alelos HLA sin asociaciones significativas se les asignó una puntuación de 0. Se construyeron dos modelos multivariados para tomar en cuenta posibles factores de confusión en las asociaciones HLA-VIH, después del cual los puntajes HLA-VIH (scores) generales basados en los 5 parámetros clínicos se ajustaron en consecuencia. Primero, se generaron modelos independientes que relacionaron cada alelo HLA con cada parámetro clínico de VIH, mientras se ajustó por el género, la edad, el origen geográfico (país/región de reclutamiento codificado como variable binaria n-1) y por el efecto de las asociaciones HLA más significativas para ese parámetro clínico (definida como los alelos HLA con $p < 0.001$ en el análisis univariable por Mann-Whitney correspondiente). En consecuencia, los modelos de regresión lineal de los análisis de la cohorte combinada MEX/CAM fueron ajustados para los siguientes alelos, CVp: *B*57:03*, *C*18:01*, *C*04:01*, *B*57:01*, *A*30:02*, *B*35:12*, *B*27:05*, *C*07:02* y *A*68:01*; conteo de CD4: *B*27:05*, *A*03:01*, *C*07:02*, *A*68:03*, *B*39:05*, *C*08:02*, *B*35:12*, *A*02:05*, *B*14:02*, *C*18:01*; Z-score: *B*57:03*, *C*18:01*, *B*27:05*, *C*07:02*, *B*39:05*, *B*35:12*, *B*57:01*, *B*14:02*, *C*08:02*, *C*04:01*, *A*68:03*, *A*03:01* y *A*68:01*; %CD4: *B*27:05*, *A*68:03*, *B*39:05*, *B*57:01* y *C*07:02*; cociente CD4/CD8: *B*27:05*, *B*57:01*, *A*68:03*, *C*07:02*, *B*39:05*, *B*42:01* y *C*18:01*. Los modelos de la cohorte MEX se ajustaron con los siguientes alelos, CVp: *B*27:05*, *C*08:02*, *B*14:02* y *B*57:01*; conteo CD4: *B*27:05* y *C*08:02*; Z-score: *B*27:05*, *B*14:02* y *C*08:02*; %CD4: *B*27:05*, *B*39:05*, *C*08:02*, *B*14:02* y *C*07:02*; cociente CD4/CD8: *B*27:05*, *B*39:05* y *A*68:03*. Los modelos de la cohorte CAM se ajustaron con los

siguientes alelos, CVp: *B*35:12*, *A*30:02*, *C*18:01*, *C*04:01* y *B*57:03*; conteo CD4: *B*39:05*, *A*68:03*, *A*68:01* y *C*18:01*; Z-score: *C*18:01*, *B*35:12*, *B*57:03*, *A*68:01* y *A*68:03*; %CD4: *A*68:03*; cociente CD4/CD8: *A*68:03*, *B*42:01* y *A*68:01*. El segundo modelo multivariable ajustó para todos los subtipos HLA en LD significativo con cada alelo HLA asociado con un parámetro clínico de VIH en esa cohorte. Los análisis estadísticos se realizaron en STATA/MP v14.1 (StataCorp, College Station, Texas) y R v3.3.3²⁵¹.

6.10 Complejidades aditivas HLA

6.10.1 Efecto aditivo de alelos HLA protectores y de riesgo

Para investigar el efecto aditivo HLA en la cohorte combinada MEX/CAM, comparamos los parámetros clínicos de VIH (CVp, conteo de CD4 y Z-score) entre los individuos que coexpresaron alelos HLA protectores y de riesgo del *locus HLA-B* (Figura 33) y tomando en cuenta a todos alelos protectores y de riesgo de los *loci HLA-A*, *-B* y *-C* (Figura 34). Los individuos de la cohorte fueron categorizados dependiendo del número de alelos protectores y de riesgo (aquellos que se asociaron significativamente con al menos un parámetro clínico [score HLA-VIH de +1/-1] de la Figura 27 del presente estudio). Todo los demás individuos que no expresaron ningún alelo protector o de riesgo fueron agrupados en la última categoría de cada panel de las Figura 33 y Figura 34 (alelos protectores =0 y de riesgo =0). Todos los grupos fueron excluyentes y se compararon mediante la prueba estadística no paramétrica U de Mann-Whitney y la prueba Kruskal-Wallis. Sólo las diferencias con $p < 0.05$ fueron consideradas como significativas. Debido a que en la Figura 34 se realizaron más de 250 comparaciones en cada panel, las múltiples comparaciones se corrigieron con valores q ($p < 0.05$ y $q < 0.2$ fueron consideradas como significativas).

6.10.2 Efectos dependientes de frecuencia HLA

Se correlacionaron las frecuencias alélicas HLA (calculadas como se describió anteriormente en la sección 6.8) y la mediana de la CVp, conteo de CD4 y el Z-score asociada a cada alelo HLA presente ($n > 5$) en la cohorte combinada MEX/CAM (Figura 35, panel B-D) y para los alelos asociados significativamente (puntuación o score de 5 parámetros del análisis univariable de la Figura 27 panel A) con la progresión a la enfermedad en el presente estudio (Figura 35, panel F-H). Para resaltar la importancia del puntaje (score) HLA-VIH obtenido con los 5 parámetros clínicos, lo correlacionamos con las frecuencias alélicas HLA individuales (Figura 35, panel A y E). Además, se correlacionó la frecuencia global o combinada de todos los *loci* HLA o para cada *loci* para cada uno de los individuos de la cohorte con sus parámetros clínicos (CVp, conteo CD4 o Z-score). Para esto asignamos a cada individuo de nuestra base de datos una frecuencia general o combinada de sus alelos HLA, equivalente a

la suma de las frecuencias de todos sus alelos HLA individuales. Las correlaciones fueron determinadas con la prueba no paramétrica de rangos de Spearman.

6.10.3 Ventaja de los heterocigotos HLA

Se comparan los parámetros clínicos de los heterocigotos HLA (en los 3 *loci*) con los homocigotos para cualquier *loci* y los homocigotos exclusivamente para un *loci* en particular (homocigotos sólo en los *loci* HLA-A, -B y -C). Los efectos de la homocigosis acumulada también se examinó agrupando a los individuos homocigotos en uno, dos o los tres *loci* HLA. Todos los grupos fueron excluyentes y se compararon mediante la prueba estadística no paramétrica U de Mann-Whitney. Sólo las diferencias con $p < 0.05$ fueron consideradas como significativas.

6.11 Comparación de parámetros clínicos asociados a la progresión de la enfermedad por VIH entre los alelos B*35 y los grupos B*35-PX/PY

Las frecuencias alélicas de los alelos B*35 ($n > 10$) entre la cohorte MEX y la cohorte CAM se compararon utilizando pruebas exactas de Fisher corregidas con valores q. Las comparaciones con $p < 0.05$ y $q < 0.2$ se tomaron como diferencias estadísticamente significativas (Figura 38). Con el objetivo de evaluar el impacto de los subtipos B*35 específicos sobre la progresión a la enfermedad por VIH, comparamos las CVp y los conteos de T CD4 (los dos parámetros clínicos utilizados como parámetros independientes de la progresión a la enfermedad^{74,247}) entre los individuos positivos y negativos para cada uno de los alelos B*35 que tuvieron una $n > 10$ (Figura 39). Debido a que se ha descrito un efecto aditivo de los alelos HLA²²³, comparamos los parámetros clínicos entre los individuos que coexpresaban uno y dos alelos B*35 cualquiera (Figura 40, paneles A y B), y para los individuos que coexpresaban uno y dos alelos B*35 específicos (Figura 40, paneles C y D), en esta última comparación se excluyeron a los individuos dobles positivos para alelos B*35 distintos para evitar el efecto de los homocigotos observado en las comparaciones del panel A y B de la misma figura, es decir, sólo se compararon los homocigotos y heterocigotos para un alelo en particular.

A continuación, se compararon la CVp y el conteo de CD4 entre los alelos previamente descritos como B*35-PX, PY y aquellos no descrito por pertenecer a estos grupos con los parámetros de los individuos negativos a cualquier subtipo B*35 (Figura 41, panel A y B). Además, en virtud de su similitud con otros miembros de los grupos B*35-PX (notablemente B*35:02/03/04) y B*35-PY (B*35:01/08), en las posiciones 114 y 116 del sitio de unión a péptido de la molécula HLA-B, los alelos amerindios B*35 previamente no definidos como PX/PY se clasificaron como miembros putativos o potenciales de dichos grupos. En consecuencia, los alelos que tenían asparagina (N) en posición 114 y tirosina o fenilalanina (Y/F) en posición 116 se clasificaron como PX putativos

(*B*35:06/12/22/31*), y los alelos con ácido aspártico (D) en posición 114 y serina (S) en posición 116 se clasificaron como PY putativos (*B*35:05/10/11/14/16/17/19/20/23/24/26/27/28/30/43-/45/48/49*) (ver Figura 42 en la sección de Resultados). Entonces, comparamos los valores de parámetros clínicos entre los grupos *B*35-PX* y PY putativos (Figura 41, panel C y D). Todos los grupos fueron excluyentes y las comparaciones se evaluaron mediante las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney (comparación de dos grupos) y Kruskal Wallis (comparación de 3 o más grupos).

6.12 Caracterización de epítomos de VIH

6.12.1 Ensayos de EliSpot IFN γ

Se buscaron epítomos de VIH restringidos por el grupo alélico *HLA-B*39* utilizando la técnica EliSpot (*Enzyme-Linked Immuno-Spot*) evaluando la citocina IFN γ . El ensayo de EliSpot es una técnica cualitativa y semi-cuantitativa que se ha utilizado para monitorear las respuestas inmunes en humanos y animales. Este ensayo está basado y se desarrolló a partir un ensayo modificado del inmunoensayo de ELISA y se utiliza principalmente para la identificación y conteo de células productoras de citocinas a nivel de una sola célula. En apropiadas condiciones, el ensayo EliSpot permite visualizar células activadas y secretoras de alguna citocina. Cada punto (o *spot*) representa una sola célula que respondió al antígeno probado. De esta manera, este ensayo proporciona información cualitativa (intensidad de respuesta) y semi-cuantitativa (número de células que responden). Para este estudio se probaron péptidos de 15 aminoácidos sobrelapados en 10-11 residuos de las proteínas de VIH-1 subtipo B (donados por el programa de reactivos del *NIH AIDS Research & Reference Reagent Program*) utilizando la estrategia de mezclas (*pools*) de péptidos basado en matrices con el objetivo de utilizar el menor número de PBMCs. Las PBMCs fueron separadas mediante gradiente de centrifugación (Ficoll-Paque Pharmacia, Uppsala, SE) de sangre periférica de la cohorte MEX inmediatamente después de la venopunción. Todos los ensayos de EliSpot se realizaron con células frescas. Las PBMCs se dejaron en reposo en medio RPMI 1640 mientras se preparaba la placa de EliSpot. Las PBMCs se contaron y se distribuyeron en placas de 96 pozos con fondo de nitrocelulosa y difluoruro de polivinilideno (multiscreen MAHA S45, Millipore, Bedford, MA), que se habían recubierto previamente con 5 μ g/ml del anticuerpo monoclonal anti-interferón gamma (IFN γ) 1-D1K (BD Pharmingen) durante al menos 4h en cámara húmeda a 4°C. Se eliminó el anticuerpo anti-IFN γ restante lavando 3 veces con 200 μ l de PBS y se bloqueó la placa con 100 μ l/pozo de medio con 10% de suero bovino fetal (SBF) por 1h a 37°C. Cada pool de péptidos o péptidos individuales se añadieron a una concentración final de 10 μ g/ml, tal como se ha descrito anteriormente²⁵². Se añadieron un total de entre 1-2x10⁵ células por pozo en 150 μ l de RPMI 1640 (sin SBF). Para los controles negativos, las células se incubaron solamente con medio. Se

añadió el superantígeno SEB (enterotoxina B de *Staphylococcus aureus*, Sigma-Aldrich) a una concentración de 3µg/ml como control positivo. Las células con los péptidos de VIH se incubaron un mínimo de 18h (máximo 24h) a 37°C con 5% CO₂. Para eliminar las células, las placas se lavaron 3 veces 200µl de PBS/Tween al 0.05% y luego 3 veces más con PBS, y se añadieron 2.5µg/ml del anticuerpo monoclonal biotinilado anti-IFNγ (BD Pharmingen) y se incubaron durante 2h a temperatura ambiente en ausencia de luz. La placa se lavó 3 veces con PBS/Tween 0.05% y 3 veces con PBS, y se incubaron con una dilución 1:2000 de fosfatasa alcalina unida a estreptavidina (Mabtech) durante 2h a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Las placas se lavaron nuevamente 3 veces con PBS/Tween 0.05% y 3 veces con PBS (3 veces), y los spots de las células productoras de IFNγ se detectaron con BCIP/NBT (nitroblue tetrazolium y 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato, BioRad, Hercules, California) durante 20 minutos. La reacción de color se detuvo lavando la placa en agua corriente. Se retiró la cubierta de plástico inferior y las placas se secaron durante 24h a temperatura ambiente en ausencia de luz. Las unidades formadoras de puntos (SFU, por sus siglas en inglés) o spots se contaron en el equipo Bioreader 5600 (Bio-Sys, Alemania) y los resultados se expresaron en SFU/millón de PBMCs. Los umbrales para las respuestas positivas se determinaron con al menos 3 spots (30 SFU/millón de PBMCs) o 3 veces el promedio de los pozos de los controles negativos, lo que fuera mayor.

6.12.2 Mezclas (*pools*) de péptidos de Nef

Como se mencionó previamente, se utilizó la estrategia de mezclas de péptidos basados en matrices para reducir el número de ensayos dado el número limitado de células utilizado en otros estudios descritos previamente²⁵³. La colección de péptidos de Nef está compuesto por 49 péptidos de 15 aminoácidos sobrelapados en 10-11 aminoácidos cubriendo toda la secuencia de aminoácidos de la proteína. En la Tabla 5 se muestra el diseño de la matriz de péptidos para realizar la mezcla de péptidos. En consecuencia, en los sujetos *B*39+* se probaron los 14 pools de péptidos por triplicado (más 6 pozos de controles: 3 negativos y 3 positivos = 48 pozos; 2 ensayos de distintos individuos por placa). Después los péptidos representados en todos los cruces de los pools positivos se probaron individualmente por duplicado o triplicado (en acorde a las PBMCs restantes).

Tabla 5. Matriz de mezclas de péptidos de Nef

| Pools | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 8 | 5139 | 5140 | 5141 | 5142 | 5143 | 5144 | 5145 |
| 9 | 5146 | 5147 | 5148 | 5149 | 5150 | 5151 | 5152 |
| 10 | 5153 | 5154 | 5155 | 5156 | 5157 | 5158 | 5159 |
| 11 | 5160 | 5161 | 5162 | 5163 | 5164 | 5165 | 5166 |
| 12 | 5167 | 5168 | 5169 | 5170 | 5171 | 5172 | 5173 |
| 13 | 5174 | 5175 | 5176 | 5177 | 5178 | 5179 | 5180 |
| 14 | 5181 | 5182 | 5183 | 5184 | 5185 | 5186 | 5187 |

Se muestra el diseño de las mezclas (pools) de péptidos de Nef basados en matriz. El nombre de los pools (primera fila de arriba y primera columna de la izquierda; mostrados en gris) se muestran en negritas. Los péptidos individuales (n=49) en estos 14 pools se muestran en las celdas blancas. Cada pool de la primera fila (del 1-7) está compuesto por los péptidos de cada columna y los pools de la primera columna de la izquierda (del 8-14) están compuestos por los péptidos de cada fila.

6.12.3 Búsqueda de epítomos por algoritmos computacionales (*Motif Scan*)

A la par de la búsqueda de epítomos experimentales mediante EliSpot, se realizará la predicción de epítomos de VIH restringidos por el grupo alélico *B*39* utilizando los motivos de reconocimiento ya reportados para los alelos *B*39:01*, *B*39:02* y *B*39:10*. Esta búsqueda se realizó con el fin de encontrar posibles epítomos restringidos por los alelos *B*39* cuyo motivo de reconocimiento ya se conocía previamente y para observar posibles mutantes de escape cuando los pacientes con esos alelos HLA no presenten respuesta hacia esos epítomos. La herramienta para la búsqueda de epítomos virtuales utilizada en este proyecto es *Motif Scan* de la base de datos de VIH de Los Alamos (<http://www.hiv.lanl.gov/>). *Motif Scan* es un programa computacional en línea que busca motivos de reconocimiento o anclaje dentro de secuencias de proteínas para genotipos, serotipos y supertipos HLA, por lo que es capaz de predecir epítomos potenciales sobre las secuencias de proteínas de VIH. Este software utiliza dos bibliotecas de motivos de reconocimiento: Marsh2000²⁵⁴ y SYFPEITHI²⁵⁵.

6.12.4 Matriz de 769 péptidos de todo el proteoma de VIH (matriz m88-35-4)

Se realizó una prueba de concepto para evaluar la amplitud de las respuestas de linfocitos T CD8+ citotóxicos a todo el proteoma de VIH utilizando los 769 péptidos proporcionados por *NIH AIDS Research & Reference Reagent Program* que incluyen péptidos sobrelapados o superpuestos (en 10-11 aminoácidos) de todas las proteínas del VIH: incluyendo *Gag* (p17, p24 y p17), *Pol* (proteasa, transcriptasa inversa e integrasa), proteínas accesorias (*Vif*, *Vpr*, *Tat*, *Rev* y *Vpu*), *Env* (gp120 y gp41) y *Nef*. Lo que representó un gran reto dado que se tenían que probar cientos de péptidos con una cantidad muy limitada de PBMCs del donador. El programa computacional desarrollado por Mario Roederer, Deconvolute This!^{213,214} fue utilizado para optimizar la configuración de la matriz de péptidos, generar la lista de péptidos en cada pool y para determinar los ensayos

de segunda ronda basado en los resultados del primer ensayo. Se seleccionó una matriz de 88 pools (mezclas) con 35 péptidos cada uno y en donde cada péptido estaba representado 4 veces en los pools (de allí el nombre de m88-35-4). Cada péptido se diluyó en DMSO a una concentración de 1000mg/ml (dependiendo de su solubilidad). Los péptidos fueron mezclados de manera que la concentración final de cada péptido en la estimulación fuera de 10µg/ml (concentración final en el pozo de la placa de EliSpot). Para los ensayos de segunda ronda, los péptidos individuales también se probaron a una concentración de 10µg/ml.

7. RESULTADOS

7.1 Características de las cohortes MEX y CAM

En la Tabla 6 se muestran las características clínicas y demográficas de las cohortes de México (cohorte MEX, n=1679), Centroamérica (cohorte CAM, n=1534) y de la cohorte combinada (cohorte MEX/CAM, n=3213). En general, los perfiles clínicos de nuestras cohortes de VIH son consistentes con otros informes en América Latina²⁵⁶, donde los individuos a menudo son diagnosticados con una infección avanzada de VIH presentando infecciones oportunistas relacionadas con el SIDA en su primera visita a un centro de atención médica o de seguridad social. La mediana de CVp en la cohorte MEX (4.72 Log₁₀ copias RNA de VIH/ml [IQR 4.14-5.26]) fue significativamente más alta que en la cohorte CAM (4.57 Log₁₀ copias RNA de VIH/ml [IQR 3.83-5.14]), aunque los conteos de CD4 y la razón CD4/CD8 no difirieron significativamente entre las cohortes (mediana de 315 céls./µl y ~0.28, respectivamente). Para poner en contexto, las medianas de CVp y conteos de CD4 en la cohorte HOMER fueron 4.90 (IQR 4.33-5.26) Log₁₀ copias RNA VIH/ml y 340 (IQR 170-500) céls./µl, respectivamente. Los porcentajes de T CD4 (mediana para MEX: 16.5 [IQR 9.0-24.8]; mediana para CAM: 16.0 [IQR 9.0-23.0]) y los valores de Z-score (mediana para MEX: -0.12 [IQR -0.69-0.46]; mediana para CAM: -0.05 [IQR -0.61-0.56]) también difirieron modestamente entre las cohortes (p<0.01). Los datos demográficos de las cohortes también fueron generalmente consistentes con los reportes anteriores de poblaciones latinoamericanas²⁵⁶, con el porcentaje de hombres con sobrerrepresentación en ambas cohortes (MEX: 78.2%; CAM: 64.2%) y la mediana de edad al momento de reclutamiento ligeramente menor para la cohorte MEX (30.5 años) en comparación con la cohorte CAM (33 años). Para poner en contexto, la cohorte HOMER está compuesta predominantemente por hombres (86.2%) y la mediana de edad al momento de reclutamiento es 37.4 (IQR 32-44) años. Es de destacar, que el 47% de los individuos de la cohorte MEX se identificaron como hombres que tienen sexo con hombres (HSH) en comparación con el 22.4% en la cohorte CAM (60.7% frente al 34.6% de los hombres, respectivamente), lo que puede reflejar un subregistro de HSH debido al estigma y discriminación asociada a la preferencia sexual,

común en esta región²⁵⁷⁻²⁵⁹. También se observaron algunas diferencias regionales adicionales en las variables demográficas entre las cohortes de estudio.

Tabla 6. Características clínicas y demográficas de las cohortes MEX y CAM.

| VARIABLE CLÍNICA/DEMOGRÁFICA | Cohorte combinada MEX/CAM | Cohorte MEX | Cohorte CAM | Valor p* |
|---|---------------------------|--------------------|--------------------|----------|
| N | 3213 | 1679 | 1534 | -- |
| Edad (años, mediana[IQR]) | 31 [25-40] | 30.5 [24-38] | 33 [26-42] | <0.00001 |
| Femenino (N[%]) | 912 [28.4%] | 364 [21.7%] | 548 [35.7%] | 0.0001 |
| Log₁₀ Carga Viral en plasma de VIH (CVp, copias RNA/mL, mediana[IQR]) | 4.65 [4.01-5.22] | 4.72 [4.14-5.26] | 4.57 [3.83-5.14] | <0.00001 |
| Conteo absoluto de T CD4+ (cél./μL, mediana[IQR]) | 315 [124-516] | 315 [124-528] | 315 [125-504] | NS |
| Z-score de VIH (median[IQR]) β | -0.08 [-0.66-0.52] | -0.12 [-0.69-0.46] | -0.05 [-0.61-0.56] | 0.0022 |
| Porcentaje del conteo de T CD4+ (%[IQR]) | 16.0 [9.0-24.0] | 16.5 [9.0-24.8] | 16.0 [9.0-23.0] | 0.0056 |
| Razón CD4/CD8 (median[IQR]) | 0.28 [0.14-0.49] | 0.28 [0.14-0.49] | 0.29 [0.14-0.49] | NS |
| Estado civil (N[%]) | | | | 0.0001 |
| Soltero | 1434 [63.5] | 538 [72.2] | 896 [59.2] | |
| Casado | 325 [14.3] | 91 [12.2] | 234 [15.4] | |
| Unión libre | 499 [22.1] | 116 [15.5] | 383 [25.3] | |
| Desconocido | 955 | 934 | 21 | |
| Nivel de estudios (N[%]) | | | | 0.0001 |
| Analfabeto | 136 [6.0] | 16 [2.1] | 120 [7.9] | |
| Primaria | 704 [31.2] | 127 [17.3] | 577 [38.0] | |
| Secundaria | 863 [38.3] | 345 [47.0] | 518 [34.1] | |
| Técnico o Licenciatura | 523 [23.2] | 233 [31.7] | 290 [19.1] | |
| Posgrado | 26 [1.1] | 13 [1.7] | 13 [0.8] | |
| Desconocido | 1097 | 945 | 16 | |
| Ocupación (N[%]) | | | | 0.0023 |
| Desempleado | 969 [44.0] | 282 [40.0] | 687 [45.9] | |
| Empleado | 1077 [48.9] | 358 [50.85] | 719 [48.0] | |
| Estudiante | 154 [7.0] | 64 [9.0] | 90 [6.0] | |
| Desconocido | 1013 | 975 | 38 | |
| Factor de riesgo de VIH (N[%]) | | | | 0.0001 |
| Heterosexual | 1394 [64.2] | 289 [42.8] | 1105 [73.9] | |
| Hombres que tiene sexo con hombres | 657 [30.2] | 322 [47.7] | 335 [22.4] | |
| Bisexual | 75 [3.4] | 37 [5.4] | 38 [2.5] | |
| Usuarios de drogas intravenosas | 35 [1.6] | 19 [2.8] | 16 [1.0] | |
| Transfusión sanguínea | 5 [0.2] | 5 [0.7] | 0 [0] | |
| Transmisión de madre a hijo | 3 [0.1] | 2 [0.3] | 1 [0.07] | |
| Desconocido | 1044 | 1005 | 39 | |

β, métrica o variable que relaciona la CVp y el conteo de CD4 (ver Método). Valores altos de Z-score significan un valor bajo de CVp y un conteo alto de CD4 y viceversa. *, se utilizó la prueba estadística U de Mann-Whitney o la prueba Chi cuadrada para comparar las variables entre la cohorte MEX y la cohorte CAM. IQR, rango intercuartil (por sus siglas en inglés). NS, no significativo. Tabla tomada y traducida de la referencia²⁶⁰.

7.2 El perfil inmunogenético único de los individuos infectados por VIH en Mesoamérica (cohorte MEX/CAM)

Las distribuciones de frecuencias de alelos HLA de clase I definidas a nivel de subtipo difirieron marcadamente entre la cohorte combinada MEX/CAM (n=3213) en comparación con HOMER (n=1622) (Figura 23). Los alelos del locus HLA-A más frecuentes observados en la cohorte combinada MEX/CAM fueron A*02:01 (FA=0.20),

*A*24:02* (FA=0.15), *A*02:06* (FA=0.06) y *A*68:01* (FA=0.06); los más frecuentes en *HLA-B* fueron *B*35:01* (FA=0.10), *B*40:02* (FA=0.06), *B*39:05* (FA=0.05) y *B*51:01* (FA=0.04); y del *locus HLA-C* los más frecuentes fueron *C*04:01* (FA=0.19), *C*07:02* (FA=0.18), *C*07:01* (FA=0.07) y *C*01:02* (FA=0.07). De los 153 alelos HLA investigados, el 52.9% (81/153) exhibió frecuencias significativamente diferentes ($p < 0.05$, $q < 0.2$) entre las cohortes MEX/CAM y HOMER; estos incluyen 25/45 alelos *HLA-A*, 39/77 alelos *HLA-B* y 17/31 alelos del *locus HLA-C*. Siendo más específicos, las frecuencias de los alelos *A*02:02/05/06/22*, *A*23:01*, *A*24:02*, *A*30:01/02/04*, *A*31:01*, *A*33:01*, *A*34:02*, *A*68:01/02/03/05/07*, *A*74:01*, *B*15:03/10/15*, *B*35:01/12/14/17/20/43*, *B*39:02/05/06/08/11*, *B*40:02/08/11*, *B*41:01*, *B*42:01*, *B*45:01*, *B*48:01*, *B*52:01*, *B*53:01*, *B*57:03*, *B*58:02*, *C*02:10*, *C*03:05*, *C*04:01*, *C*07:02*, *C*08:01*, *C*15:09*, *C*17:01* y *C*18:01* fueron significativamente más altas en la cohorte MEX/CAM en comparación con la cohorte HOMER, siendo consistente con el enriquecimiento de alelos HLA amerindios entre las poblaciones mestizas^{231,261}. Por el contrario, las frecuencias de *A*01:01*, *A*02:01*, *A*03:01*, *A*11:01*, *A*25:01*, *A*29:02*, *A*32:01*, *B*07:02*, *B*08:01*, *B*13:02*, *B*15:01*, *B*18:01*, *B*27:05*, *B*35:03*, *B*37:01*, *B*40:01*, *B*44:02/03*, *B*51:01*, *B*55:01*, *B*57:01*, *C*02:02*, *C*03:03/04*, *C*05:01*, *C*06:02*, *C*07:01/04*, *C*12:03* y *C*14:02* fueron significativamente más bajas en la cohorte MEX/CAM al compararlas con la cohorte HOMER, consistente con la alta prevalencia de estos alelos en poblaciones caucásicas²⁶². Dado que la cohorte HOMER incluye una minoría de individuos que se autoidentifican como hispanos (~2%) o como amerindios/aborígenes (~13%)²³⁹, estas distribuciones de frecuencias HLA marcadamente diferentes son notables y subrayan la singularidad de las poblaciones mestizas mesoamericanas que se caracterizan por presentar principalmente una mezcla genética de componentes amerindios y caucásicos, y en menor medida, de componentes africanos²⁶³⁻²⁶⁵. En particular, la cohorte MEX/CAM presentó una diversidad de subtipos de HLA “típicamente” amerindios pertenecientes a los grupos alélicos *A*02*, *A*68*, *B*15*, *B*35*, *B*39* y *B*40*, lo que acentúa las cohortes mestizas presentadas en este estudio como ideales para identificar nuevos correlatos entre la expresión de subtipos HLA y el control del VIH.

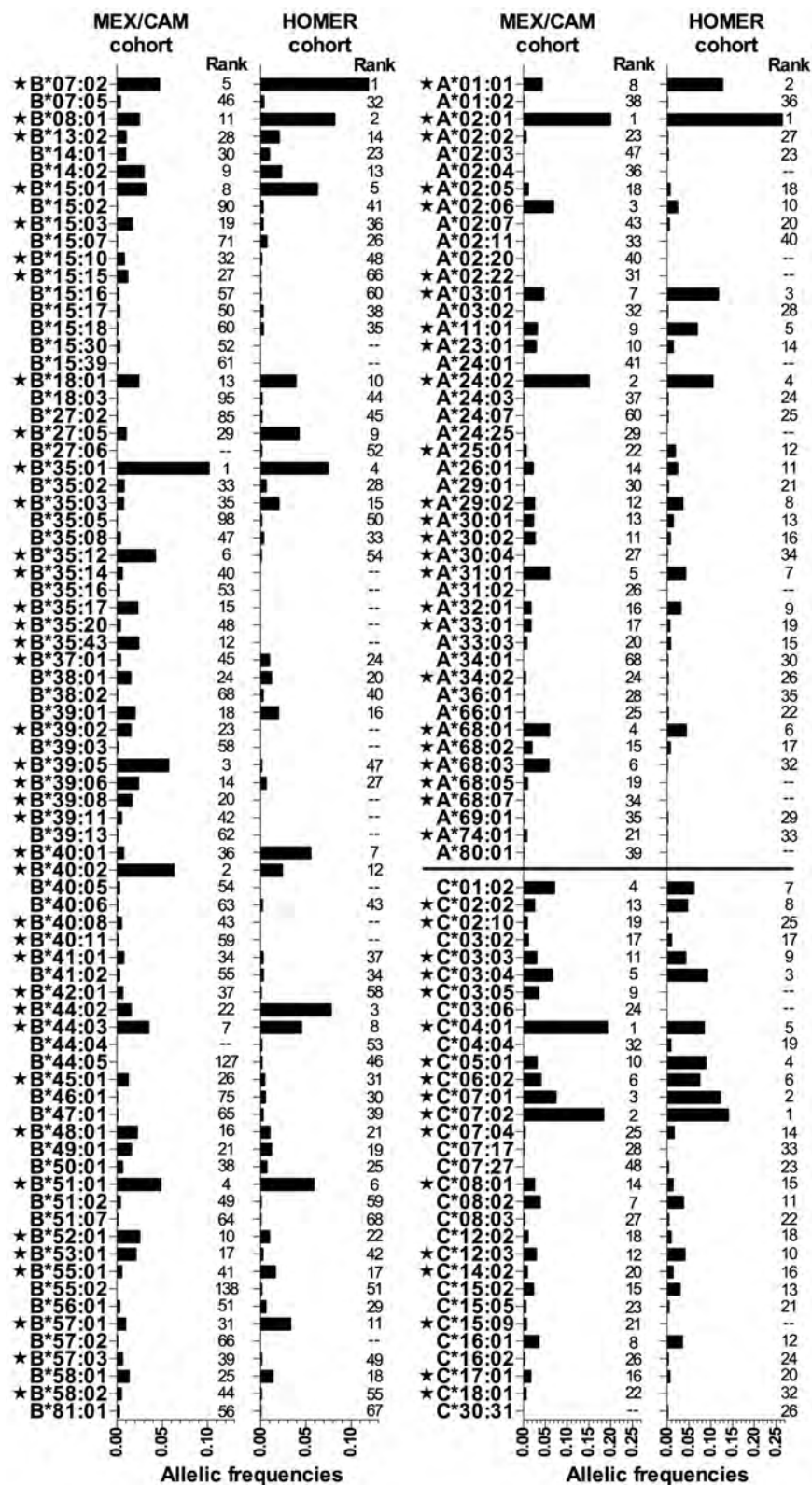


Figura 23. Comparación de las frecuencias alélicas HLA de clase I entre la cohorte mestiza MEX/CAM (n=3213) y la cohorte mayoritariamente caucásica HOMER (n=1622).

Las frecuencias alélicas (2n) fueron calculadas usando la herramienta HLA Analysis de la base de datos de Los Alamos (<https://www.hiv.lanl.gov>); se muestran todas las FA >0.001 en por lo menos una cohorte. Las frecuencias HLA se compararon usando pruebas exactas de Fisher corrigiendo para múltiples comparaciones con valores q^{246} . Las diferencias significativas ($p < 0.05$, $q < 0.2$) se denotan con (*). *Allelic frequencies*, frecuencias alélicas. *Rank*, posición de los alelos más frecuentes en cada *loci*. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

A continuación, evaluamos los desequilibrios de ligamiento (LD, por sus siglas en inglés) HLA y las estructuras de haplotipos en nuestras cohortes de Mesoamérica (Figura 24). Aunque los haplotipos heredados de los *loci* HLA de clase I no pudieron definirse en el presente estudio (ya que esto requiere cohortes de individuos relacionados), el fuerte LD entre dichos *loci* nos permitió identificar haplotipos de 2 y 3 *loci* más comunes en nuestra cohorte mestiza (Figura 24, Tabla Suplementaria S 2 a la S7). Cuando la cohorte MEX se analizó de forma independiente, se identificaron 104 haplotipos HLA de 2 *loci* distintos (corrección de Bonferroni, $p < 3.9E-06$, Tabla Suplementaria S 2), de los cuales dos haplotipos tenían una frecuencia poblacional (FP) ≥ 0.10 ($B^*39:05 \sim C^*07:02$ [FP=0.13, haplotipo previamente descrito por nuestro grupo de investigación²⁶⁶] y $B^*35:01 \sim C^*04:01$ [FP=0.12]) y 35 haplotipos tenían una PF entre 0.02-0.10 (Figura 24A, segmentos verdes y azules, respectivamente). Además, se encontraron 36 haplotipos HLA de 3 *loci* distintos en la cohorte mexicana (corrección de Bonferroni, $p < 8.0E-06$, Tabla Suplementaria S 3), de los cuales un haplotipo tenía una $FP \geq 0.05$ ($A^*68:03 \sim B^*39:05 \sim C^*07:02$ [PF=0.078]). Para la cohorte CAM, se identificaron 95 haplotipos HLA de 2 *loci* distintos (corrección de Bonferroni, $p < 3.5E-06$, Tabla Suplementaria S 4), de los cuales un haplotipo tenía un $FP \geq 0.10$ ($B^*35:01 \sim C^*04:01$ [FP=0.13]) y 33 haplotipos tenían una FP entre 0.02-0.10 (Figura 24B, segmentos verdes y azules, respectivamente). Además, se encontraron 30 haplotipos HLA de 3 *loci* distintos en la cohorte CAM (corrección de Bonferroni, $p < 8.2E-06$, Tabla Suplementaria S 5), de los cuales 6 haplotipos tuvieron una $FP \geq 0.05$ ($A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*01:02$ [FP=0.067], $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*03:04$ [FP=0.067], $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*03:05$ [FP=0.067], $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*07:01$ [FP=0.067], $A^*68:03 \sim B^*35:43 \sim C^*07:02$ [FP=0.063], y $A^*68:03 \sim B^*39:05 \sim C^*07:02$ [FP=0.063]). Cuando se analizó la cohorte MEX/CAM en conjunto, se identificaron 154 haplotipos HLA de 2 *loci* distintos (corrección de Bonferroni, $p < 2.3E-06$, Tabla Suplementaria S 6), de los cuales sólo un haplotipo tuvo una $FP \geq 0.10$ ($B^*35:01 \sim C^*04:01$ [PF=0.12]). Además, se encontraron 87 haplotipos HLA de 3 *loci* distintos (corrección de Bonferroni, $p < 4.2E-06$, Tabla Suplementaria S 7), de los cuales 10 haplotipos tuvieron una $FP \geq 0.05$: $A^*68:03 \sim B^*35:43 \sim C^*07:02$ (FP=0.071), $A^*02:06 \sim B^*39:05 \sim C^*07:02$ (FP=0.063), $A^*02:06 \sim B^*39:08 \sim C^*07:02$ (FP=0.063), $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*03:04$ (FP=0.056), $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*03:06$ (FP=0.056), $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*04:01$ (FP=0.056), $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*07:01$ (FP=0.056), $A^*24:02 \sim B^*40:02 \sim C^*07:02$ (FP=0.056), $A^*02:01 \sim B^*35:12 \sim C^*03:03$ (FP=0.051), y $A^*02:01 \sim B^*35:12 \sim C^*04:01$ (FP=0.051).

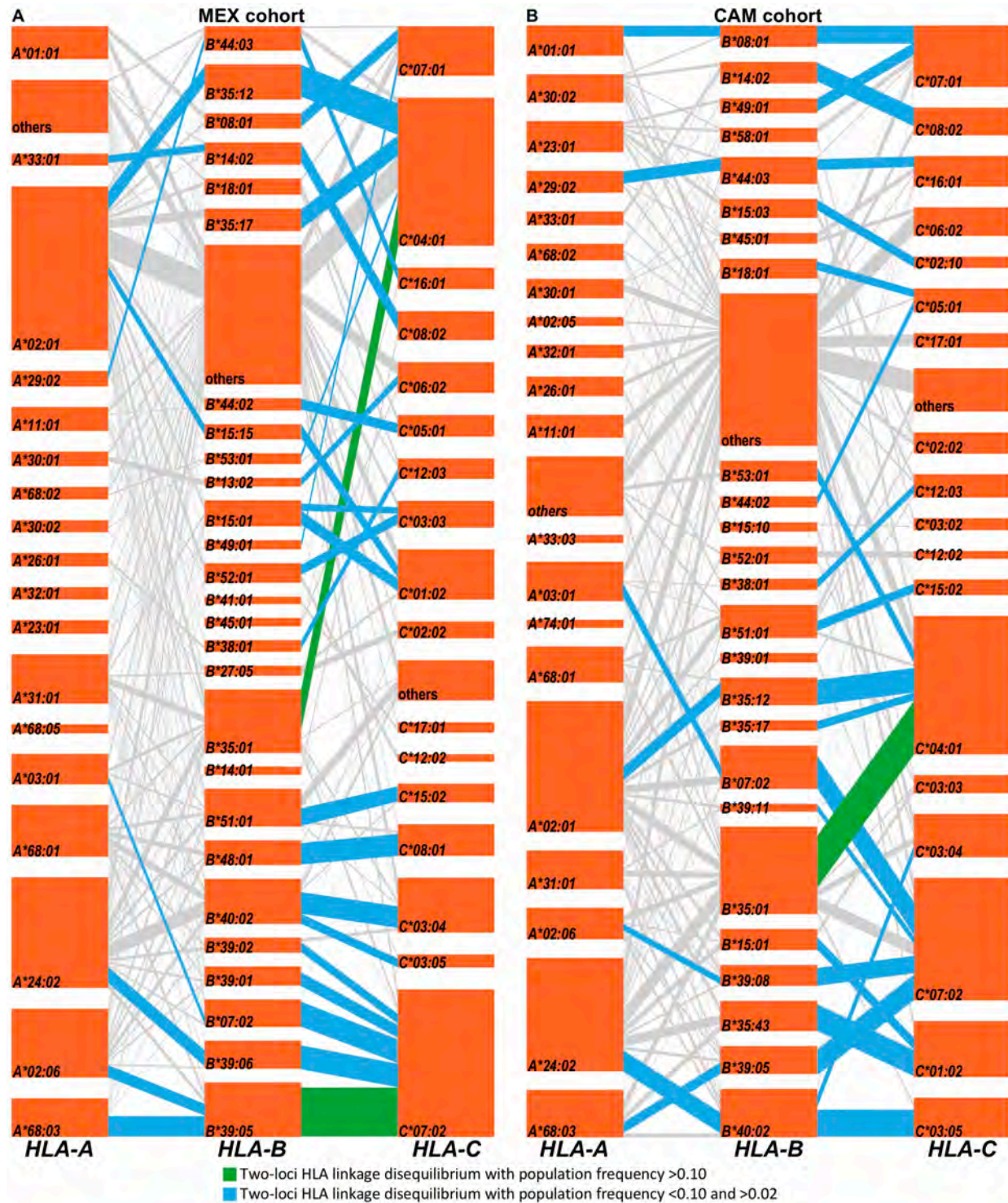


Figura 24. Estructura de haplotipos HLA de clase I y desequilibrio de ligamiento en las cohortes de MEX y CAM.

Los *loci* HLA se encuentran apilados verticalmente, cada mosaico de color naranja representa un subtipo HLA específico, con segmentos que conectan alelos ligados en los *loci* adyacentes. La altura de cada mosaico y el grosor de cada segmento corresponden a las frecuencias alélicas y haplotípicas HLA, respectivamente. Los pares de alelos HLA más frecuentes (2 *loci*) que se encuentran en desequilibrio de ligamiento se denotan en verde (frecuencia poblacional [FP] >0.10) y en azul (FP <0.10 y >0.02); los pares de alelos menos frecuentes (FP <0.02) se muestran en color gris. También se encontraron pares de alelos entre los *loci* HLA-A y HLA-C frecuentemente heredados (FP <0.10 y >0.02) en nuestras cohortes, incluyendo A*33:01/C*08:02, A*29:02/C*16:01, A*68:01/C*03:04 y A*68:03/C*07:02 en la cohorte MEX, y A*02:06/C*07:02, A*24:02/C*01:02, A*24:02/C*03:05, y A*68:03/C*07:02 en la cohorte CAM (no mostrados en la figura; ver Tabla Suplementaria S 4 y Tabla Suplementaria S 6). Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

7.3 Las asociaciones HLA con la carga viral (CVp) de VIH en MEX/CAM incluyen asociaciones tanto canónicas como novedosas

Dadas las diferencias significativas encontradas en las distribuciones HLA entre nuestra cohorte mestiza MEX/CAM y la cohorte mayoritariamente caucásica HOMER, planteamos la hipótesis de que las asociaciones entre los alelos HLA y los parámetros clínicos de VIH diferirían marcadamente. Exploramos esto mediante la búsqueda de asociaciones (análisis univariable, ver Método) entre los alelos HLA y la CVp (el bien caracterizado marcador de progresión a la enfermedad por VIH⁷⁴) en ambas cohortes. En el umbral estadístico predefinido de $q < 0.2$ identificamos trece alelos HLA (5 *HLA-A*, 5 *HLA-B* y 3 *HLA-C*) significativamente asociados con una CVp más baja y cuatro alelos (2 *HLA-A* y 2 *HLA-B*) asociado con una mayor CVp en HOMER; en comparación con dieciséis alelos HLA (1 *HLA-A*, 7 *HLA-B* y 8 *HLA-C*) asociados con una CVp inferior y doce alelos HLA (4 *HLA-A*, 5 *HLA-B* y 3 *HLA-C*) asociados con una CVp más alta en la cohorte combinada MEX/CAM (Figura 25). Varias de estas asociaciones fueron consistentes en ambas cohortes, en todos los casos, estas asociaciones fueron con alelos HLA previamente reportados por estar asociados con la progresión a la enfermedad por el VIH, incluidos los alelos protectores canónicos *B*57:01* y *B*27:05*^{117,121,134,135,195,222,226,228-230} que se asociaron con una CVp significativamente menor en ambas cohortes. Además, como se ha descrito previamente, *A*30:02*^{220,229,230} (LD con *B*18:01* y *C*05:01* en ambas cohortes), *C*02:02*^{195,228} (LD con *B*27:05* en ambas cohortes) y *C*14:02*^{216,228} (LD con *B*51:01* en ambas cohortes) se asociaron con una CVp más baja en ambas cohortes; mientras que *A*68:01*^{223,226} (LD con *C*03:04* en MEX/CAM y *C*07:04* en HOMER) se asoció con mayores valores de CVp en ambas cohortes. También se confirmaron numerosas asociaciones HLA previamente reportadas en una de las dos cohortes. Siendo más específicos, los alelos *A*25:01*^{134,187}, *A*32:01*^{134,195}, *B*14:01*^{187,222} y *B*13:02*^{195,223,229,230} se asociaron con una CVp más baja exclusivamente en HOMER; mientras que los alelos *B*07:02*^{187,195,223,229,230}, *B*55:01*^{155,267} y *A*23:01*^{134,224} se asociaron con CVp más altas en HOMER. Además, los alelos *B*14:02*^{187,222}, *B*57:03*^{216,218,221-223,225,228}, *B*58:01*^{121,216,220,223,226,227}, *B*81:01*^{121,216,223,226}, *C*03:02*²²³ (LD con *B*58:01*), *C*03:05*²²⁹ (LD *B*40:02*, *A*24:02*), *C*08:02*²²⁶ (LD *B*14:01/02*), *C*12:02*^{226,227} (LD *B*52:01*¹⁸⁷), *C*14:03*^{227,228} (el cual no cuenta con LD significativo) y *C*18:01*^{220,223,226,230} (LD *B*57:01/02* y *B*81:01*) se asociaron con CVp más bajas sólo en la cohorte MEX/CAM; mientras que *B*35:01*^{105,134,216,219,227,228}, *B*35:02*^{105,117,134,195,219,228} (el cual exhibió la mediana de CVp más alta de todos los alelos *HLA-B*), *A*24:02*^{134,195,224} (LD *B*39:06*, *B*40:02*, *C*03:05*), *C*04:01*^{105,222,227,228} (LD *B*35:01/02/08/12/14/16/17/20*, *B*07:02*, *B*53:01*, entre otros) y *C*07:02*^{195,220} (LD *B*39:01/05/06/08/11*, *B*07:02*, entre otros) se asociaron con CVp más alta en la cohorte MEX/CAM.

Numerosas asociaciones nuevas se identificaron en la cohorte combinada MEX/CAM. Estas incluyen al alelo amerindio relativamente infrecuente *B*15:39* (n=8, p=0.0052, q=0.04), que se asoció con una CVp más baja, así como los alelos amerindios altamente frecuentes *B*35:12* (n=273, p=0.0002, q=0.003), *B*39:05* (n=360, p=0.0026, q=0.0034), *B*39:06* (n=153, p=0.011, q=0.07), *A*68:03* (n=370, p=0.0079, q=0.061; LD *B*39:05*, *B*35:43*, *C*07:02*), y *C*03:04* (n=427, p=0.0339, q=0.15; LD *B*40:02/01/05/08/11*, *A*68:01*), que se asociaron con una CVp significativamente más alta (*Figura 25*). Notablemente, estos alelos, aunque están presentes con una frecuencia relativamente alta en la cohorte MEX/CAM, son raros o están ausentes en poblaciones caucásicas y africana (por ejemplo, ver *Figura 23* y referencia²⁶²).

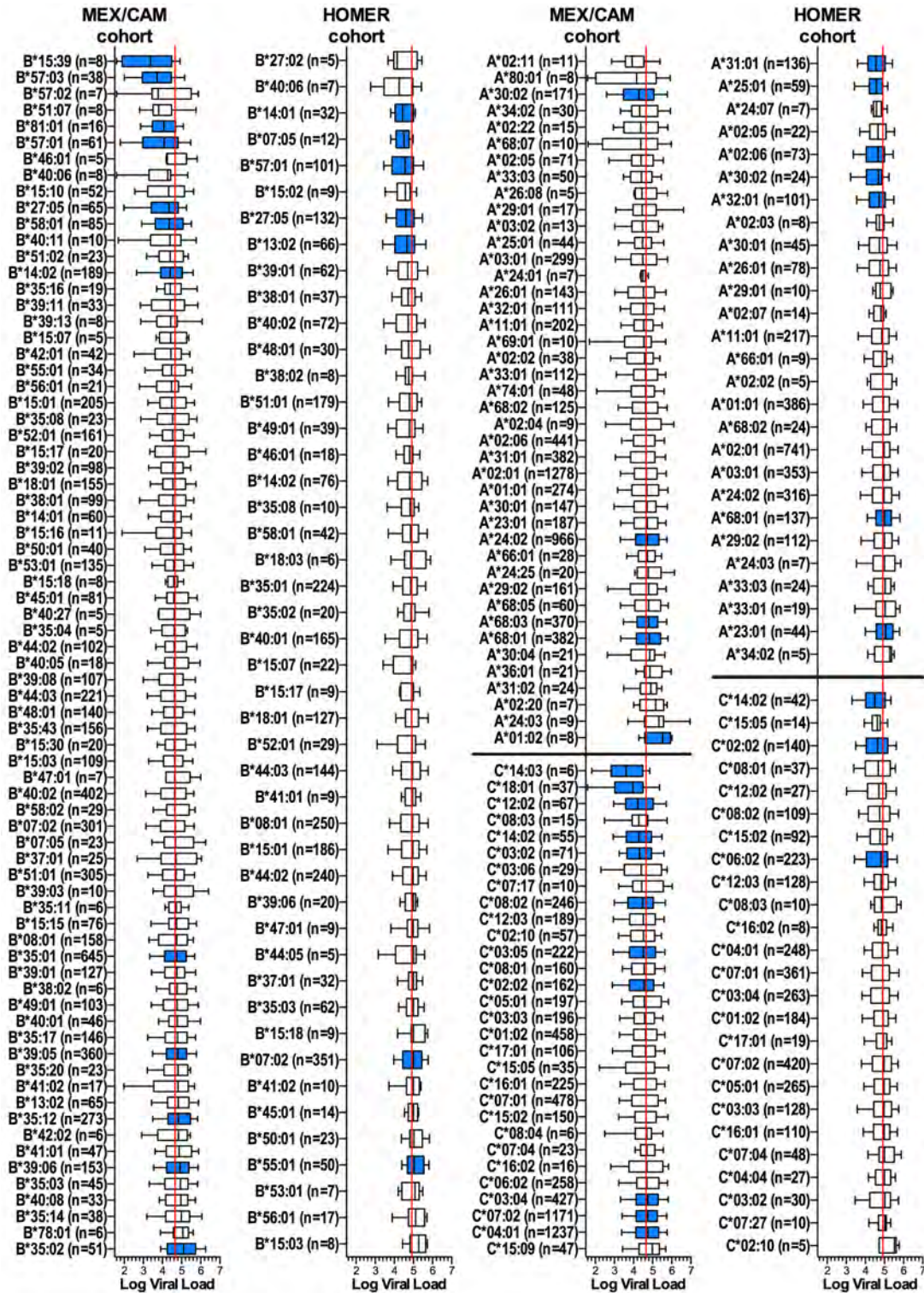


Figura 25. Asociaciones HLA y la CVp de VIH en las cohortes MEX/CAM y HOMER.

Las asociaciones entre los subtipos HLA y CVp de VIH fueron investigados para los subtipos con una frecuencia igual o mayor a 5 en individuos infectados con VIH-1 clado B, no expuestos previamente a TAR de la cohorte mestiza MEX/CAM (n=3213) y la cohorte predominantemente caucásica HOMER (n=1622). Las asociaciones entre los alelos HLA y la CVp se evaluaron usando U de Mann-Whitney, corregidas con valores q. Las asociaciones significativas ($p < 0.05$, $q < 0.2$) se denotan en azul. Las cajas denotan la mediana y los percentiles 25-75; y los bigotes representan los percentiles 10-90 de las distribuciones de CVp de los individuos que expresan cada alelo *HLA-B* (paneles derecha) o alelos *HLA-A/C* (paneles izquierda). Los alelos HLA están ordenados por su mediana de CVp y se muestran el número (n) de individuos que expresan cada alelo HLA. Las líneas verticales de color rojo denotan la mediana de CVp de cada cohorte. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

7.4 Nuevas asociaciones adicionales entre los alelos HLA amerindios y el control (riesgo o protección) del VIH

A continuación, ampliamos los análisis de nuestras cohortes mesoamericanas (tanto en la cohorte combinada MEX/CAM, como en las cohortes individuales) para identificar los alelos HLA asociados con un panel ampliado de cinco parámetros clínicos de VIH (CVp, conteo de CD4, Z-score, %CD4 y la razón CD4/CD8). En la Tabla 7 se muestra una lista de alelos HLA asociados con por lo menos uno de los 5 parámetros clínicos, estratificados por cohorte y por parámetro clínico de VIH. De acuerdo con reportes anteriores¹²¹, la variación genética en el *locus HLA-B* destaca prominentemente en las asociaciones encontradas, con 43 alelos *HLA-B* (24 en MEX/CAM, 11 en MEX y 8 en CAM) asociados con al menos un parámetro clínico de VIH ($p < 0.05$, $q < 0.2$) en comparación con 29 alelos *HLA-A* (13 en MEX/CAM, 5 en MEX y 11 en CAM) y con 29 alelos *HLA-C* (14 en MEX/CAM, 9 en MEX y en 6 en CAM).

Tabla 7. Resumen de asociaciones HLA-VIH obtenidos en análisis univariable.

| Número de alelos que fueron asociados con por lo menos un parámetro clínico de VIH | | | |
|--|---------------------------|-------------|-------------|
| <i>Loci</i> HLA | Cohorte combinada MEX/CAM | Cohorte MEX | Cohorte CAM |
| <i>HLA-A</i> | 13 | 5 | 11 |
| <i>HLA-B</i> | 24 | 11 | 8 |
| <i>HLA-C</i> | 14 | 9 | 6 |
| Número de asociaciones por parámetro clínico de VIH | | | |
| Parámetro clínico de VIH | Cohorte combinada MEX/CAM | Cohorte MEX | Cohorte CAM |
| Carga viral en plasma (CVp) | 28 | 14 | 11 |
| Conteo de T CD4 | 30 | 14 | 18 |
| Z-score | 30 | 15 | 16 |
| %CD4 | 27 | 13 | 10 |
| Cociente CD4/CD8 | 26 | 14 | 12 |

Se muestra el número de asociaciones HLA-VIH estratificados por cohorte y por *loci* HLA (tabla superior) o por parámetro clínico de VIH (tabla inferior) obtenidas en el análisis univariable utilizando la prueba U de Mann-Whitney ($p < 0.05$, $q < 0.2$). Tabla tomada y traducida de la referencia²⁶⁰.

Como una forma novedosa de cuantificar las asociaciones de alelos HLA de clase I con los parámetros clínicos de VIH, instauramos un sistema de puntuación (score HLA-VIH) que, en donde para cada alelo HLA bajo investigación, sumamos su número total de asociaciones significativas protectoras o de riesgo (cada una asignada como +1 y -1, respectivamente), de manera que los puntajes finales tienen un rango de +5 (protección) a -5 (riesgo). (Figura 27). A los alelos sin asociaciones significativas se les asignó un puntaje o score de 0. Como se esperaba, los puntajes o *scores* HLA-VIH globales asociados a cada alelo correlacionaron significativamente con su valor de mediana asociado para los 5 parámetros clínicos tanto en la cohorte combinada MEX/CAM como en las cohortes individuales (Figura 26).

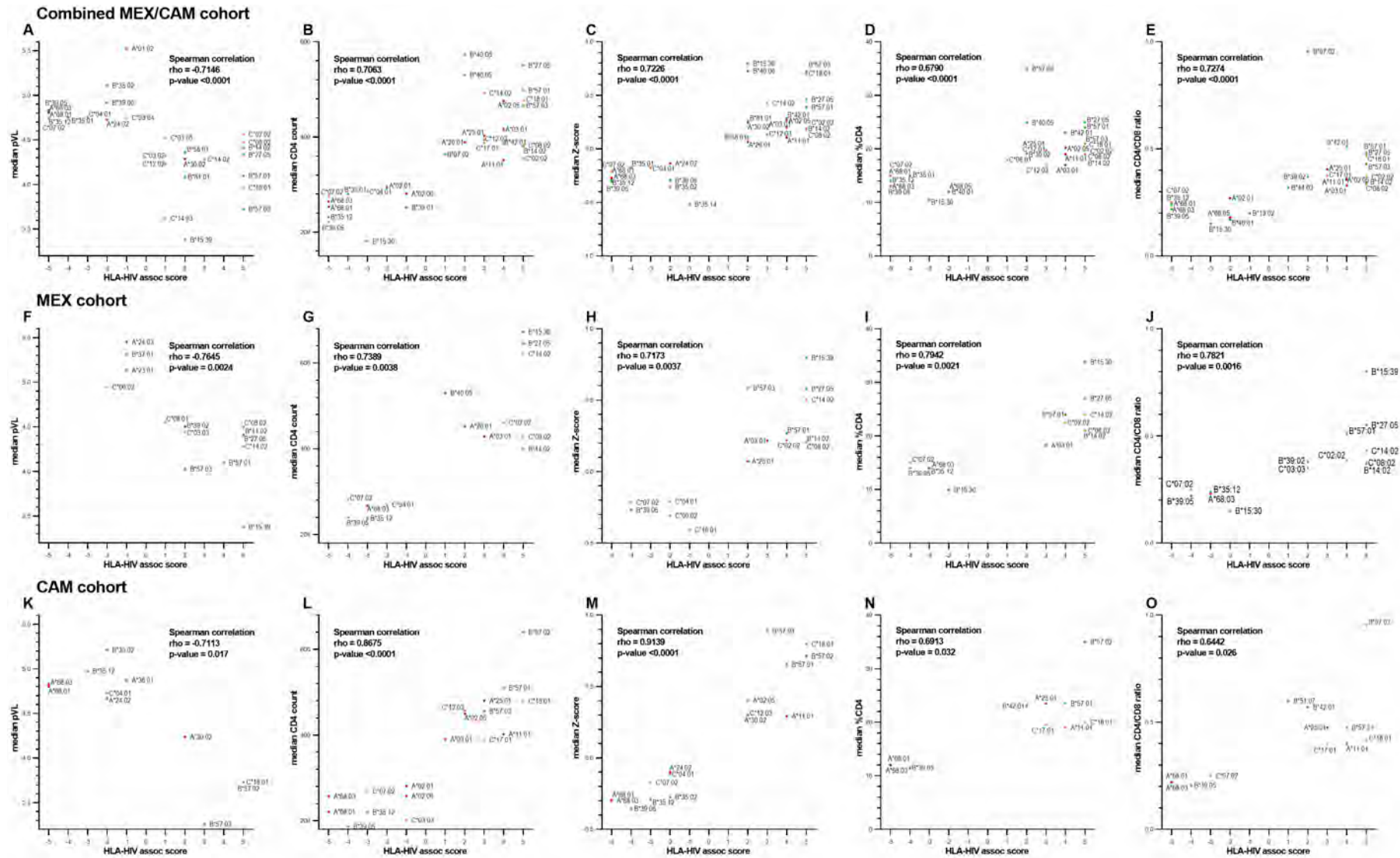


Figura 26. Correlación entre los scores HLA-VIH y las medianas de los parámetros clínicos asociados a los alelos HLA de protección y de riesgo en la cohorte combinada MEX/CAM (paneles A-E), la cohorte MEX (paneles F-J) y la cohorte CAM (paneles K-O).

Gráficas de dispersión que correlacionan los scores de las asociaciones HLA-VIH con la mediana de CVp (A, F y K), conteo de CD4 (B, G y L), Z-score (C, H y M), %CD4 (D, I y N) y el cociente CD4/CD8 (E, J y O) específico a cada alelo de protección o de riesgo. Sólo se muestran los alelos HLA identificados significativamente como de protección o de riesgo. Los subtipos *HLA-A* se muestran en rojo, *HLA-B* en verde y *HLA-C* en naranja. Las correlaciones fueron determinadas con el coeficiente de rango de Spearman. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

De igual manera, de manera general los subtipos HLA asociados con la CVp (Figura 25) se asociaron con otros parámetros clínicos de VIH (por ejemplo, 22 de 28, 78.5% en la cohorte combinada MEX/CAM), aunque se observan algunas excepciones (Figura 27).

En el análisis de la cohorte combinada MEX/CAM, 7 alelos HLA (*B*57:03*, *C*18:01* [LD *B*57:02/03*, *B*81:01*], *B*27:05*, *B*57:01*, *B*14:02*, *C*08:02* [LD *B*14:01/02*], y *C*02:02* [LD *B*27:05*]) lograron el puntaje (*score*) HLA-VIH protector más alto de +5 (Figura 27A). El siguiente grupo de mayor puntuación (*score* +4) incluyó *B*42:01*, *A*02:05* (LD *B*50:01*, *B*58:01*), *A*03:01* (nueva asociación, LD *B*07:02*, *B*39:05*), y *A*11:01* (LD *B*39:05*); en todos los casos, estos alelos se asociaron significativamente con todas las variables clínicas excepto la CVp. Un total de 20 alelos tuvieron un puntaje (*score*) entre +1 y +3; estas asociaciones incluyeron a los alelos HLA amerindios *B*15:39* (LD *C*03:03*) y *B*39:02* (LD *C*07:02*), ambos con un *score* HLA-HIV de +2, identificando estos últimos como nuevos alelos HLA protectores. De forma similar, 3 de los 5 alelos que lograron el puntaje HLA-VIH más negativo y asociado al mayor riesgo (*score* -5) en MEX/CAM fueron alelos amerindios, en particular *B*39:05* (LD *C*07:02*, *A*68:03*, *A*02:06*, *A*23:01*), *B*35:12* (LD *C*04:01*, *A*02:01*) y *A*68:03* (LD *B*39:05*, *C*07:02*) (Figura 27A), identificándolos como nuevos alelos de riesgo. Otros 15 alelos HLA adicionales que obtuvieron un *score* de entre -4 y -1; entre estos los alelos amerindios *B*15:30* (LD *C*01:02*, *score* -3), *B*39:06* (LD *C*07:02*, *A*24:02*; *score* -2), *A*68:05* (*score* -2), y *B*35:14*, *C*03:04* (LD *B*40:02/01/05/08/11*, *A*68:01*), *B*39:01* (LD *C*07:02*, *C*12:03*) y *A*02:06* (LD *B*39:05*, *C*07:02*), (estos últimos con un *score* de -1), también se identificaron como nuevos subtipos HLA de riesgo. Algunos alelos de riesgo adicionales incluyen a *B*35:01* (*score* -4, LD *C*04:01*, *C*07:01*, *C*08:02*, *C*01:02*), previamente descrito como alelo de riesgo en algunos contextos^{105,134,216,219,227,228}; y *B*13:02* (*score* -1, LD *C*06:02*, *A*30:01*) previamente descrito como alelo protector^{195,223,229,230}.

Los análisis univariados individuales de las cohortes MEX y CAM arrojaron por separado resultados que corroboraron el análisis de la cohorte combinada MEX/CAM, pero también revelaron un pequeño número de asociaciones HLA-HIV adicionales (Figura 27B y C). En el análisis de la cohorte MEX, se encontraron asociaciones previamente descritas entre alelos HLA y la progresión a la enfermedad por VIH, incluyendo a *C*16:01*²²⁶, *A*23:01*^{134,224} y *B*37:01*^{134,227} (todos con un *score* de -1), así como una nueva asociación de riesgo con *A*24:03* (*score* -1). En el análisis de CAM se encontró una asociación de protección en el alelo relativamente frecuente *B*51:07*²²⁸ (*score* +1), y las asociaciones de riesgo con los alelos *C*03:03*²²⁷ y *A*36:01*^{216,229} (ambas con un *score* de -1).

Para cuantificar la magnitud de los efectos HLA sobre los parámetros clínicos de VIH, repetimos el análisis univariable utilizando regresiones lineales (Modelos Generalizados Lineales o GLM [por sus siglas en inglés], ver 87

Tabla Suplementaria 8). Los scores HLA-HIV derivados de los análisis de GLM fueron altamente concordantes con los obtenidos con la prueba U de Mann-Whitney (Spearman rho >0.9331 en la cohorte combinada y en las cohortes individuales, en todos los casos $p < 0.0001$, Figura 28).

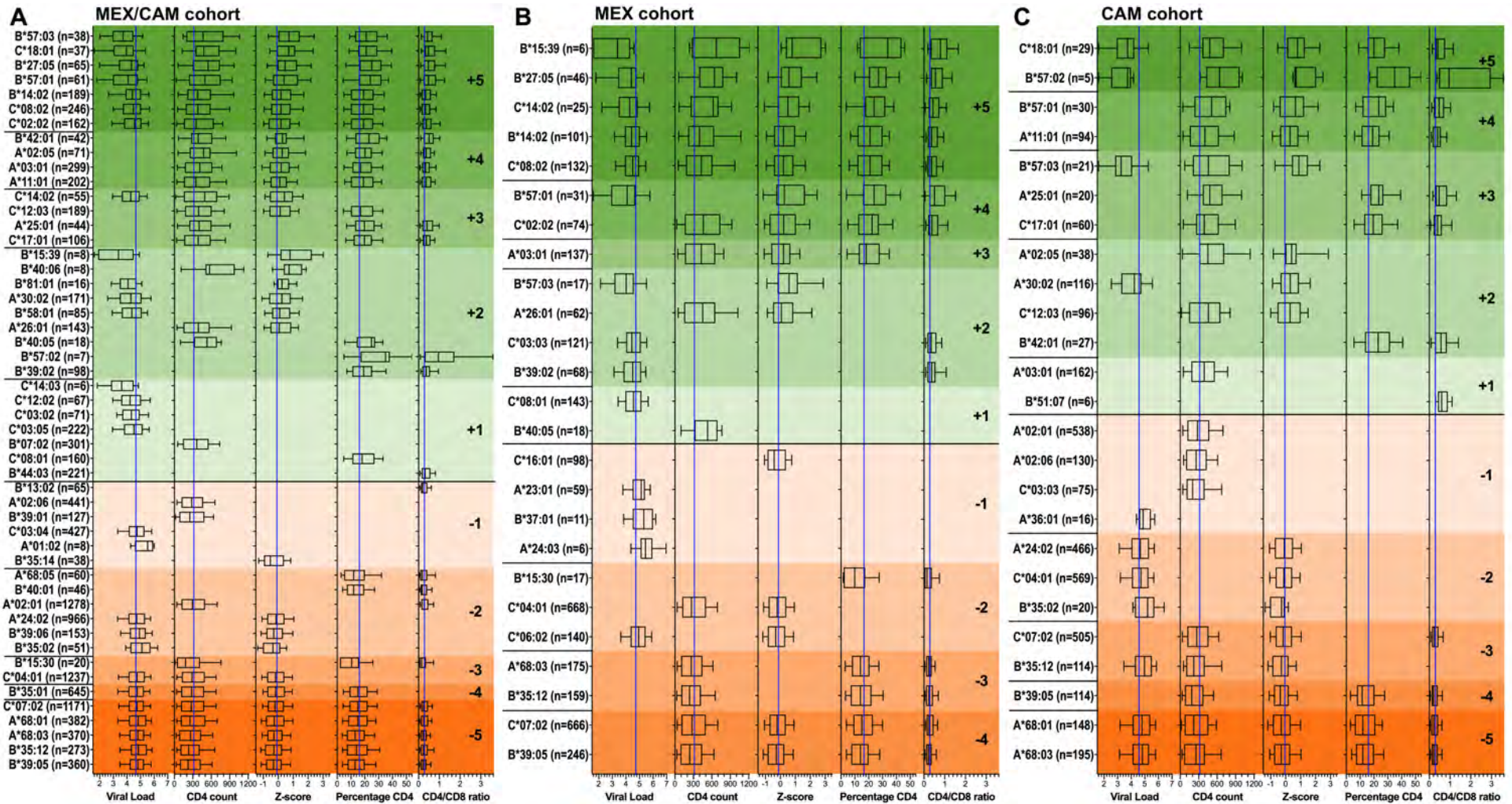


Figura 27. Asociaciones HLA-VIH utilizando 5 parámetros clínicos de VIH en las cohortes mestizas MEX/CAM, MEX y CAM.

Las asociaciones entre la expresión de los alelos HLA de clase I y los 5 parámetros clínicos de VIH (CVp, conteo de CD4, Z-score, %CD4 y la razón CD4/CD8) fueron buscados para alelos con frecuencias iguales o mayores a 5 en individuos infectados con VIH-1 clado B, no expuestos previamente a TAR de la cohorte combinada MEX/CAM (A), sólo en la cohorte MEX (B) y sólo en la cohorte CAM (C). Las asociaciones fueron evaluadas utilizando pruebas U de Mann-Whitney y las múltiples comparaciones se abordaron corrigiendo con valores q. Sólo se muestran los diagramas de caja (*box plots*) de las asociaciones HLA-VIH significativas. Los alelos se agrupan por su puntuación (score) HLA-VIH (+5 a -5), después fueron ordenados por la mediana de Z-score, CVp, conteo de CD4, %CD4 y por el cociente CD4/CD8. Los alelos de protección y de riesgo se sombreadon con colores verde y naranja progresivamente más profundos, respectivamente. Las cajas denotan la mediana y los percentiles 25-75; y los bigotes representan los percentiles 10-90 del parámetro clínico de VIH de interés. Se muestran el número (n) de individuos que expresan cada alelo HLA. Las líneas verticales de color azul denotan la mediana de cada parámetro en cada cohorte. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

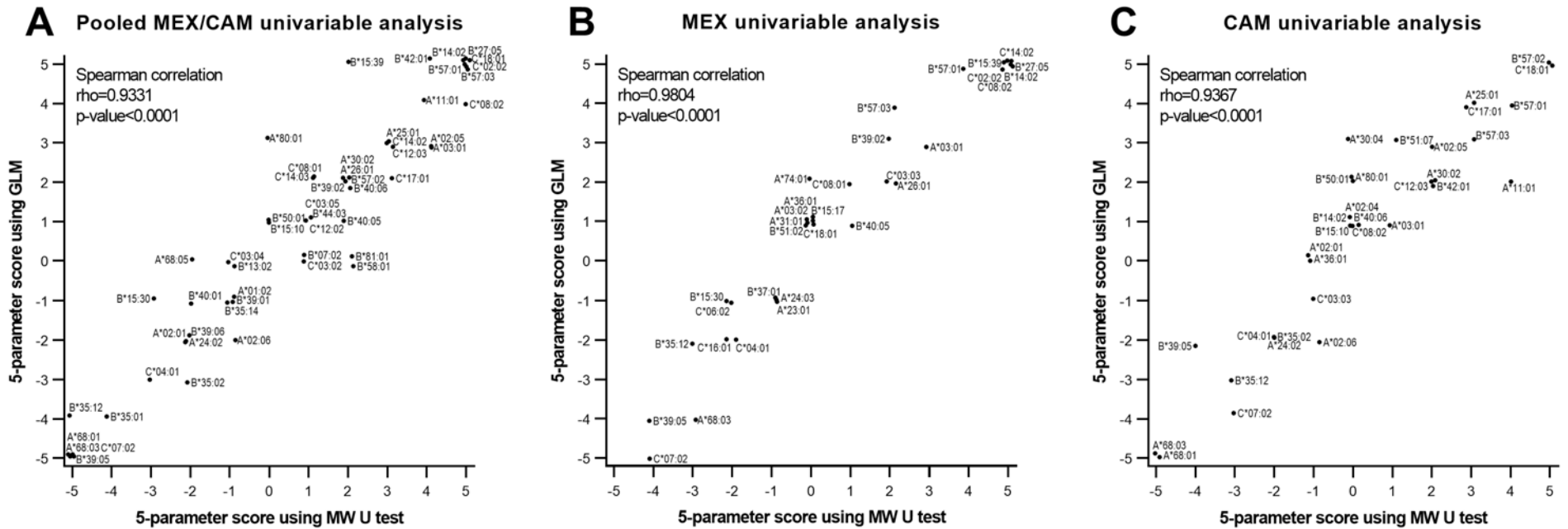


Figura 28. Correlación entre los scores HLA-HIV de 5 parámetros clínicos obtenidos con Mann-Whitney (MW U) y regresión lineal (GLM).

Gráfica de dispersión que relaciona los scores HLA-VIH utilizando 5 parámetros clínicos obtenidos en los análisis univariados de la cohorte combinada MEX/CAM (panel A), la cohorte MEX (panel B) y la cohorte CAM (panel C) usando la prueba U de Mann-Whitney y regresión lineal (Modelo Lineal Generalizado o GLM, por sus siglas en inglés). Las correlaciones fueron determinadas utilizando la prueba de rangos de Spearman. Sólo fueron usados los alelos HLA con al menos una asociación significativa (score de +1/-1). Se usó *jittering* aleatorio para evitar la superposición de puntos en la gráfica. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

A continuación, realizamos un análisis multivariable que ajustó para variables confusoras, incluyendo el género, la edad, la ubicación geográfica de reclutamiento, así como los alelos HLA con las asociaciones significativas para cada parámetro clínico de VIH en el análisis univariable (U de Mann-Whitney) en la cohorte combinada MEX/CAM, así como en las cohortes individuales (ver Método para más detalles). Los coeficientes de regresión y los intervalos de confianza 95% significativos se muestran en la Figura 29 y en la Tabla Suplementaria S9.

En general, los puntajes o scores de las asociaciones HLA-VIH entre el análisis univariable y el multivariable correlacionan robustamente en los análisis de todas las cohortes (rho de Spearman de 0.8277, 0.8566 y 0.8057 para la cohorte MEX/CAM, MEX y CAM, respectivamente, todos los valores $p < 0.0001$; Figura 30, paneles A-C).

Es importante destacar que la mayoría (10/15, 66.6%) de las nuevas asociaciones HLA-VIH con alelos amerindias identificadas en los análisis univariados de la cohorte MEX/CAM permanecieron significativas después del ajuste del análisis multivariable; entre estos se incluyen los alelos protectores *A*03:01*, *B*15:39* y *B*39:02*, y los alelos de riesgo *A*01:02*, *A*68:03*, *A*68:05*, *B*15:30*, *B*35:12*, *B*39:05* y *C*03:04* (Tabla Suplementaria S9 y Figura 29). Cuando las cohortes se analizaron individualmente, *A*03:01* (asociación de protección), *A*68:03*, *B*35:12* y *B*39:05* (asociaciones de riesgo) permanecieron significativos después del ajuste del análisis multivariable en ambas cohortes (Tabla Suplementaria S9 y Figura 29).

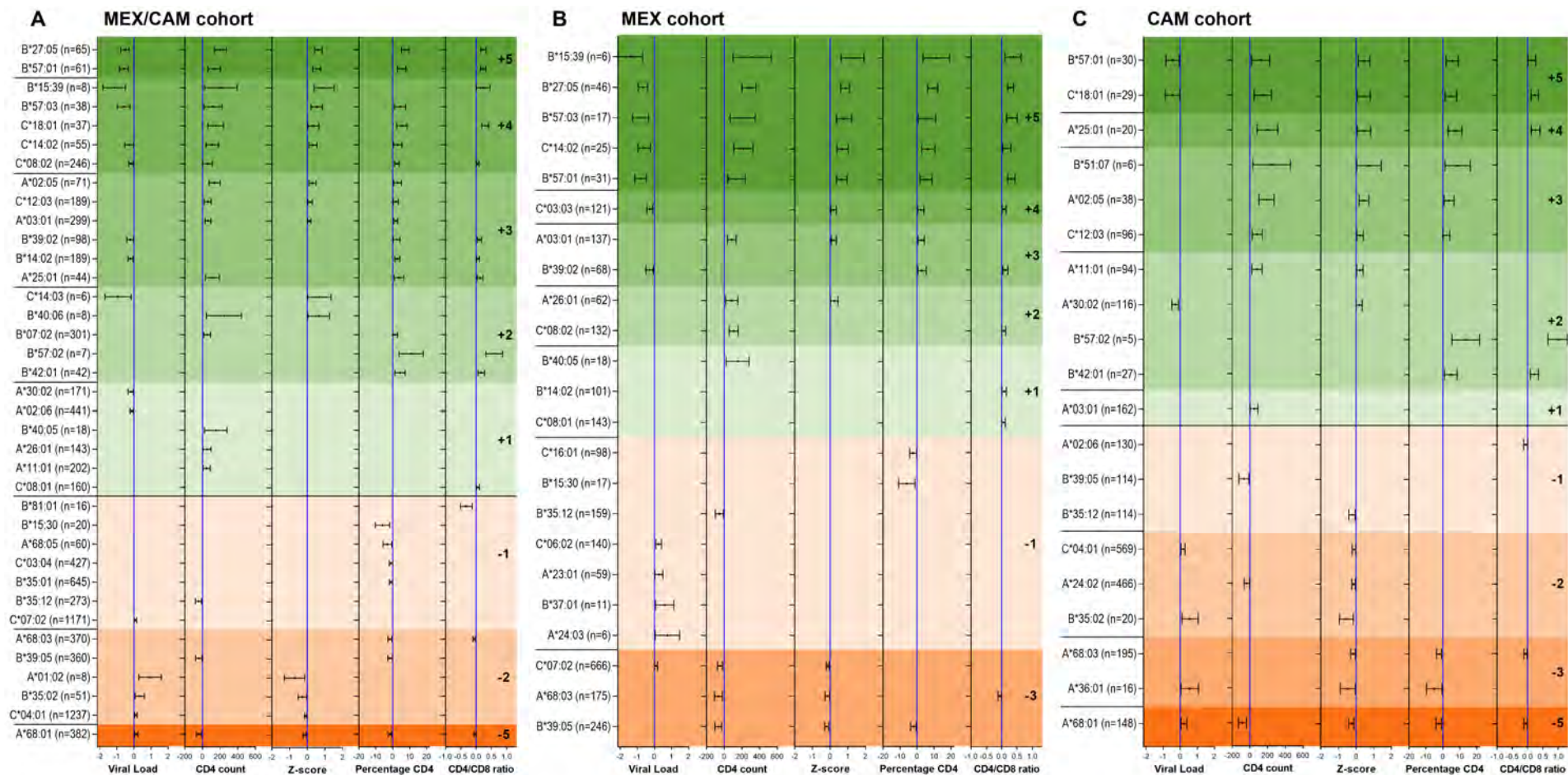


Figura 29. Análisis multivariable de las asociaciones HLA-VIH en la cohorte combinada MEX/CAM y en las cohortes individuales utilizando 5 parámetros clínicos.

Un modelo independiente de regresión lineal (GLM) fue construido para cada alelo HLA y un parámetro clínico, mientras se corrigió por el género, la edad, el lugar geográfico de reclutamiento (país/región) y la presencia de los alelos HLA con el efecto más significativo ($p < 0.001$) para cada parámetro clínico en los análisis univariable utilizando Mann-Whitney (ver Tabla Suplementaria S9 para ver los alelos HLA con los que se ajustó cada modelo). Sólo se muestran los coeficientes y los intervalos de confianza 95% de las asociaciones significativas ($p < 0.05$, $q < 0.2$). Los alelos se agrupan por el score HLA-VIH (+5 [protección] a -5 [riesgo]), después dentro de cada grupo están ordenados por el coeficiente de Z-score, CVp, conteo de CD4, %CD4 y el cociente de CD4/CD8. Los alelos asociados a la protección y al riesgo de la progresión a la enfermedad por VIH están sombreados con los colores verde y naranja progresivamente más profundos, respectivamente. Se muestran el número de individuos (n) que expresan cada alelo HLA. Las líneas verticales de color azul denotan un coeficiente igual a cero. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

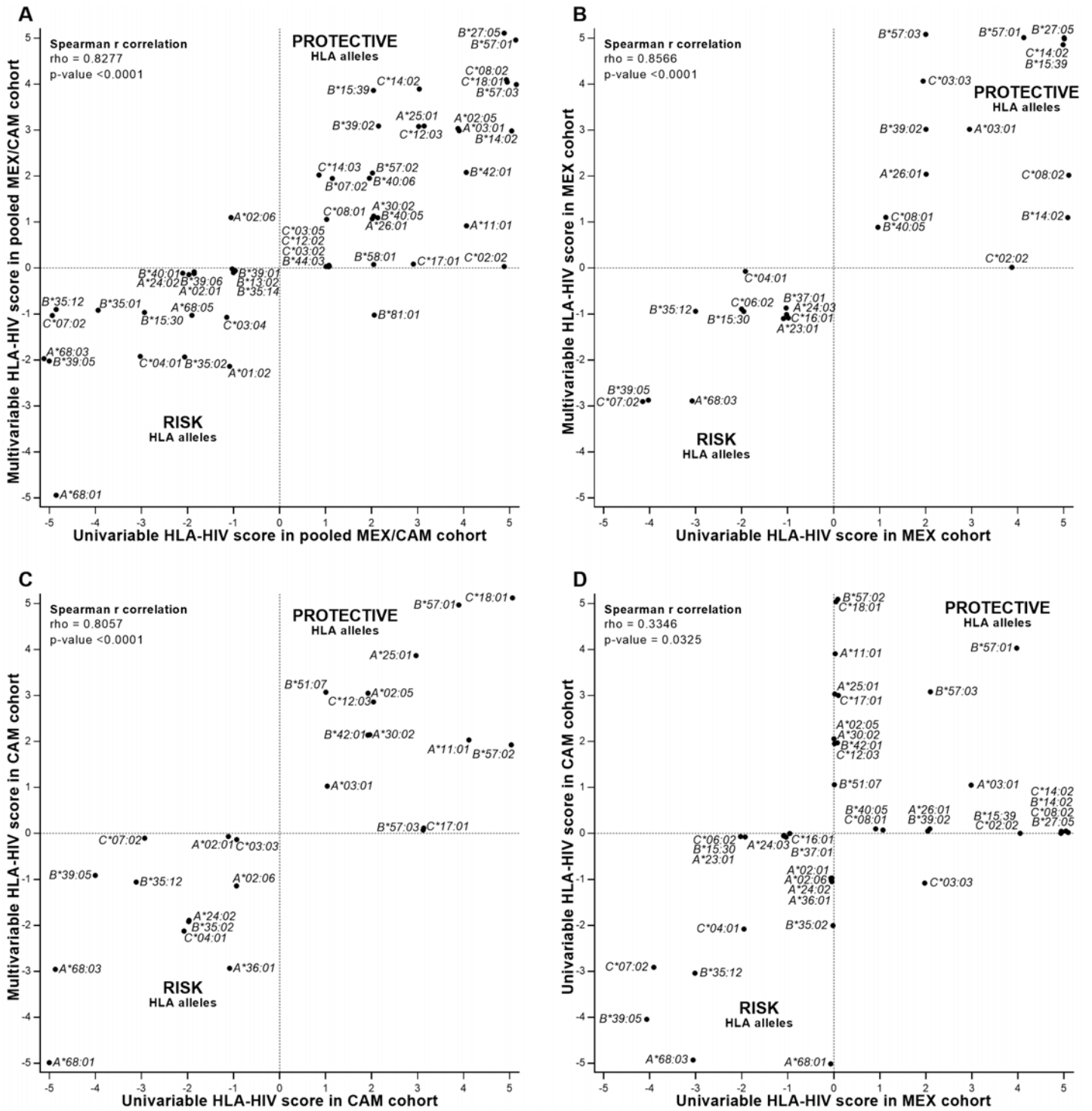


Figura 30. Correlaciones entre los scores o puntajes de las asociaciones HLA-VIH dentro y entre cohortes.

Se muestran gráficas de dispersión de los scores o puntajes HLA-VIH entre los análisis univariados y multivariados de las cohortes MEX/CAM (A), MEX (B) y CAM (C). El panel D muestra una gráfica de dispersión entre los puntajes (scores) HLA-VIH de análisis univariados entre la cohorte MEX y la cohorte CAM. La correlación entre los puntajes HLA-VIH se determinaron con prueba de rango de Spearman. Se usó *jittering* aleatorio para evitar la superposición de puntos. Para los paneles A, B y C sólo se consideraron los alelos HLA con al menos una asociación con un parámetro clínico de VIH. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

Además, se realizó un segundo análisis multivariable para tener en cuenta los efectos de los alelos en fuerte desequilibrio de ligamiento (LD) con los alelos significativamente asociados con los parámetros clínicos de VIH (segundo modelo de regresión lineal [GLM] de la Tabla Suplementaria S10). La mayoría de las asociaciones HLA-VIH identificadas en el análisis univariable de la cohorte combinada MEX/CAM se mantuvieron significativas después de la corrección multivariable; estas incluyeron a las nuevas asociaciones de protección de los alelos *A*03:01* (LD *B*07:02*, *B*39:05*), *B*15:39* (LD *C*03:03*) y *B*39:02* (LD *C*07:02*), y las asociaciones de riesgo de los alelos *A*01:02* (LD *B*49:01*), *A*02:06* (LD *C*07:02*, *B*39:05*, *B*39:08*, *C*08:01*), *A*68:03* (LD *B*39:05*, *C*07:02*, *B*35:43*), *B*15:30* (LD *C*01:02*), *B*35:12* (LD *C*04:01*, *A*02:01*) y *C*03:04* (LD *B*40:01/02*, *B*15:10*, *B*40:05/08/11*, *A*68:01*). Sin embargo, en algunos casos, el fuerte desequilibrio de ligamiento entre ciertos pares de alelos (notablemente del haplotipo protector *B*14:02~C*08:02*, el cual exhibió el LD de 2 *loci* más fuerte en la cohorte combinada [valor p del análisis de LD = 8.0E-195, ver Tabla Suplementaria S 2] y de los haplotipos de riesgo *B*39:05~C*07:02* [valor p = 3.9E-144] y *B*40:01~C*03:04* [valor p = 2.6E-23]) impidieron la identificación del alelo que conducen las asociaciones significativas con los parámetros clínicos. Además, algunas asociaciones con alelos *HLA-C* (por ejemplo, *C*02:02* de protección y *C*04:01* de riesgo) pudieron explicarse parcial o completamente por su desequilibrio de ligamiento con alelos *HLA-B*: *B*27:05* explica el efecto aparente de *C*02:02* y los alelos *B*35:01/02/12* explican el efecto aparente de *C*04:01* (el efecto aparente de *C*04:01* en fuerte LD con los alelos *B*35* se han descrito previamente¹¹⁷). De la misma forma, algunos alelos *HLA-B* no permanecieron asociados significativamente con los parámetros clínicos cuando se tomaron en cuenta sus alelos en LD. Entre estos se encuentran las nuevas asociaciones HLA-VIH con los alelos amerindios *B*39:01* y *B*39:06*, ambos en fuerte LD con el alelo *C*07:02*. Como este último alelo también está en muy fuerte desequilibrio con el muy frecuente alelo *B*39:05* (también nueva asociación de riesgo), es posible que la inclusión de *C*07:02* en el modelo confunda nuestra capacidad de validar a los alelos *B*39:01* y *B*39:06* como factores de riesgo independientes.

7. 5 Análisis secundarios utilizando sólo la carga viral (CVp) y el conteo de CD4

Aunque el uso del sistema de puntuación (score) de 5 parámetros mejoró la sensibilidad para identificar las asociaciones (ver discusión), los estudios de asociación HLA-VIH han usado tradicionalmente sólo los parámetros de CVp y el conteo de CD4^{134,216,223,226}. Por este motivo, para facilitar la comparación directa de nuestros resultados con estudios previos, los resultados basados solamente en la CVp y el conteo de CD4 se proporcionan en las Tablas Suplementarias S8 (análisis univariable) y S9 (análisis multivariable). La correlación entre los resultados de los sistemas de puntuación de 5 parámetros (CVp, conteo CD4, Z-score, % CD4 y CD4/CD8) y 2

parámetros (CVp y conteo CD4) fue significativa y robusta tanto para los análisis univariados (rho de Spearman >0.93, en todos los casos $p < 0.0001$; Figura 31, paneles A-C) como para los análisis multivariados (rho de Spearman >0.88, en todos los casos $p < 0.0001$; Figura 31, paneles D-F).

7.6 Variación regional de las asociaciones HLA-VIH entre las cohortes MEX y CAM

Finalmente, quisimos investigar hasta qué punto las asociaciones HLA-VIH en las cohortes MEX y CAM eran universales frente a las específicas de cada región. Tomando la unión de todos los alelos HLA que lograron un score HLA-VIH distinto de cero en los análisis univariados en las cohortes MEX y CAM, se evaluó el grado en que los scores se correlacionaron entre cohortes utilizando la correlación de Spearman. En general, la correlación fue estadísticamente significativa, pero la fuerza (rho) de la correlación fue bastante modesta (rho de Spearman =0.334, $p=0.032$, ver figura mostrada antes, Figura 30, panel D). De hecho, sólo 8 asociaciones se compartieron entre las cohortes MEX y CAM (alelos de protección: *B*57:01*, *B*57:03* y *A*03:01*; alelos de riesgo: *B*39:05*, *A*68:03*, *C*07:02*, *B*35:12* y *C*04:01*), mientras que 16 asociaciones fueron exclusivas de MEX y de 16 de CAM. Es importante señalar que estas diferencias podrían ser atribuibles, al menos en parte, a las importantes diferencias en la distribución de las frecuencias alélicas HLA entre las cohortes (Figura 32), que a su vez influye en el poder para identificar las asociaciones HLA-VIH individuales por debajo de un umbral de significancia predefinido. Sin embargo, esta observación sugiere que, si bien muchas asociaciones HLA-VIH son comunes a ambas regiones, otras pueden ser específicas de cada región.

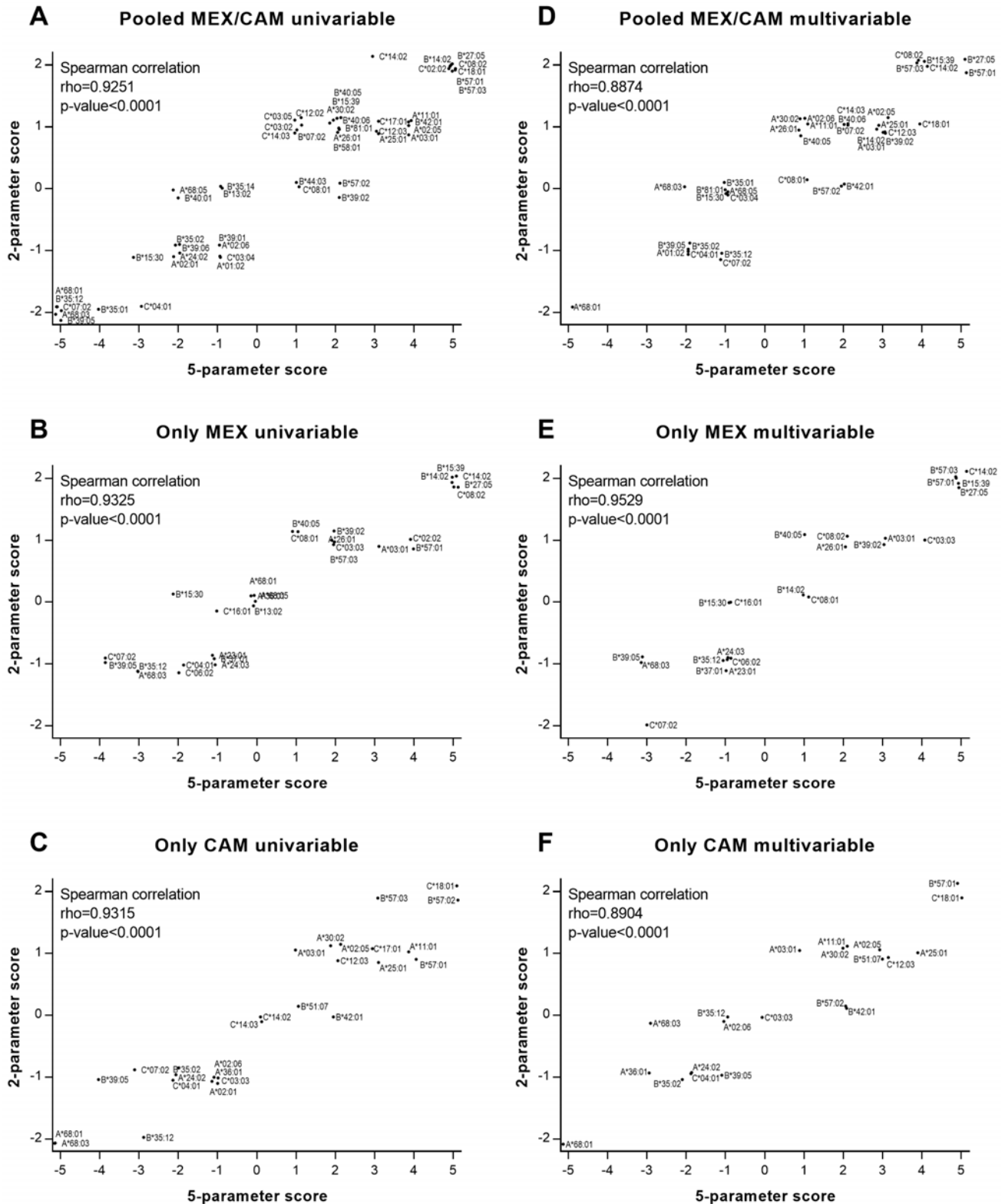


Figura 31. Correlación entre los scores basados en 5 (CVp, CD4, Z-score, %CD4 y CD4/CD8) y 2 (sólo CVp y CD4) parámetros de los análisis univariables y multivariables.

Se muestran las gráficas de dispersión que relacionan los scores basados en 5 y 2 parámetros en los análisis univariables (paneles A-C) y multivariables (paneles D-F) en la cohorte combinada MEX/CAM (panel A y D), en la cohorte MEX (paneles B y E) y en la cohorte CAM (paneles C y F). Sólo se tomaron en cuenta los alelos que se asociaron con por lo menos un parámetro clínico de VIH. Las correlaciones fueron determinadas con la prueba de rango de Spearman. Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

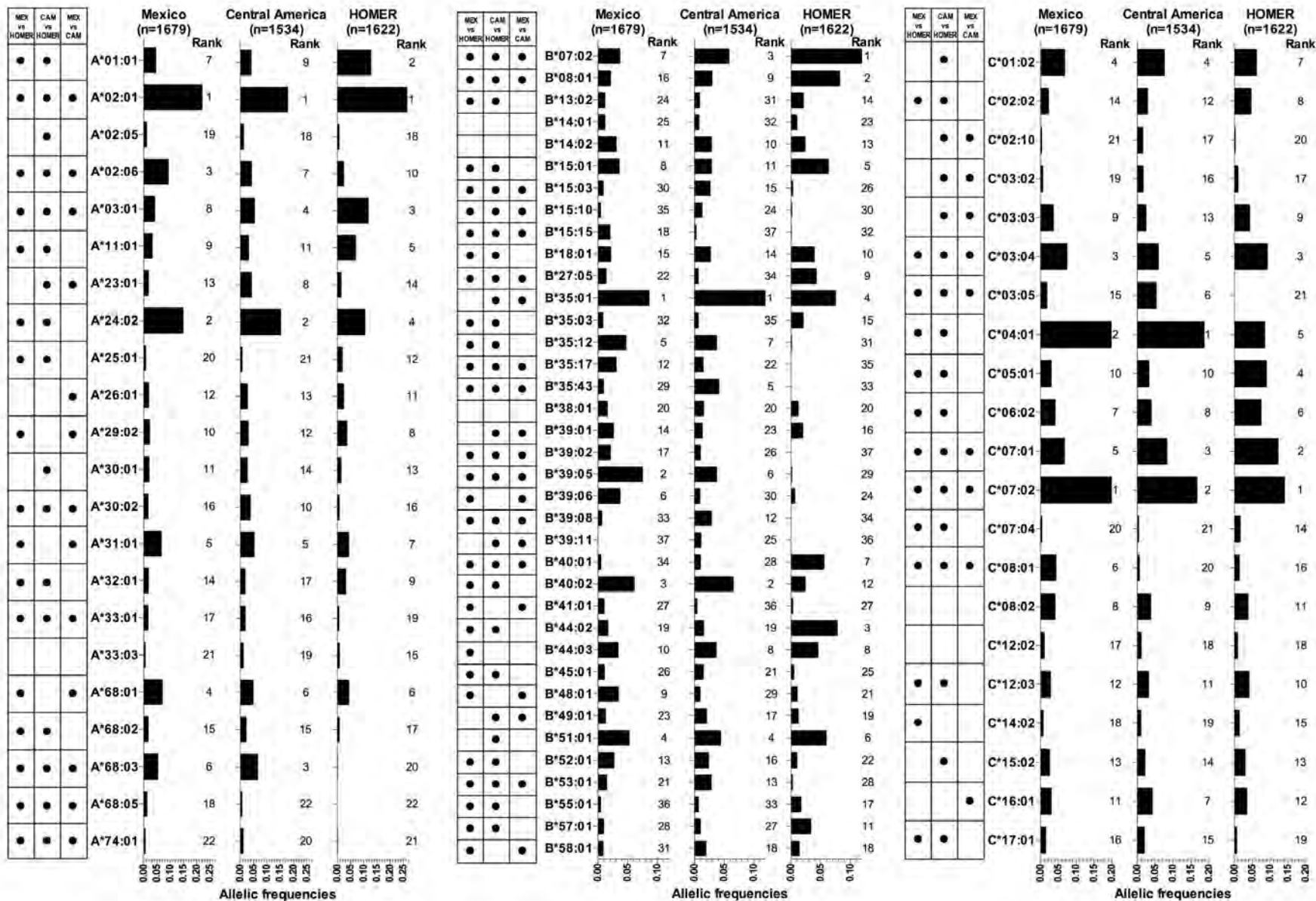


Figura 32. Comparación de frecuencias alélicas HLA de clase I entre las cohortes MEX (n=1679), CAM (n=1534) y HOMER (n=1622).

Las frecuencias alélicas HLA de clase I (FA>0.001 para por lo menos una cohorte) fueron comparadas usando pruebas exactas de Fisher corregidas con valores q para abordar las múltiples comparaciones. Las diferencias significativas (p<0.05, q<0.2) se denotan con (•). Figura tomada de la referencia²⁶⁰.

7.7 Complejidades aditivas HLA

7.7.1 Efecto aditivo de alelos HLA protectores y de riesgo

Se ha descrito en estudios previos el efecto aditivo de los alelos HLA de clase I cuando se compararon individuos VIH+ que expresan tanto alelos protectores como de riesgo, demostrando que los alelos HLA con un efecto protector o de riesgo parecen tener un efecto aditivo más que dominante en el control del VIH a nivel individual²²³. Para investigar el efecto aditivo HLA en la cohorte combinada MEX/CAM, comparamos los parámetros clínicos de VIH (CVp, conteo de CD4 y Z-score) entre los individuos que coexpresaron alelos HLA protectores y de riesgo del *locus HLA-B* (Figura 33) y tomando en cuenta a todos alelos protectores y de riesgo de los *loci HLA-A, -B y -C* (Figura 34). Los individuos de la cohorte fueron categorizados dependiendo del número de alelos protectores y de riesgo (aquellos que fueron se asociaron significativamente con al menos un parámetro clínico [score HLA-VIH de +1/-1] de la Figura 27 del presente estudio). Todo los demás individuos que no expresaron ningún alelo protector o de riesgo fueron agrupados en la última categoría de cada panel de las Figura 33 y Figura 34 (alelos protectores =0 y de riesgo =0).

El análisis en donde sólo se tomaron en cuenta los alelos protectores y de riesgo del *locus HLA-B* (Figura 33), sugiere que los individuos que coexpresan 2 y 1 alelos protectores tienen CVp significativamente más bajas y conteos de CD4 y Z-score significativamente más altos que aquellos individuos que expresaban 1 y 2 alelos de riesgo (mediana CVp: 4.38 y 4.44 vs 4.80 y 4.85; mediana CD4: 414 y 398 vs 264 y 226; mediana Z-score: 0.33 y 0.14 vs -0.24 y -0.39, respectivamente; en todos los casos $p < 0.05$). No encontramos diferencias significativas en los parámetros clínicos entre quien expresaban 1 y 2 alelos protectores, ni en quien expresaba 1 y 2 alelos de riesgo, sin embargo, no se puede descartar una falta de poder estadístico debido al reducido número de individuos que coexpresaban 2 alelos de riesgo o de protección. Notablemente, no encontramos diferencias significativas en los parámetros clínicos entre los individuos que coexpresaban un alelo *HLA-B* protector y uno de riesgo y aquellos que no expresaban ningún alelo protector o de riesgo (mediana CVp: 4.58 vs 4.62; mediana CD4: 311 vs 330; mediana Z-score: -0.02 vs -0.06, respectivamente; en todos los casos $p = \text{NS}$), lo que sugiere que los efectos *HLA-B* protectores y de riesgo se suman entre sí al expresarse en los individuos. Cuando se comparan los parámetros clínicos entre quienes coexpresan alelos protectores y de riesgo de los 3 *loci (HLA-A, -B y -C* ;Figura 34), múltiples diferencias significativas ($p < 0.05$, $q < 0.2$) se pudieron observar entre los grupos (por ejemplo, CVp: 110/253 [43.4%], CD4: 118/253 [46.6%], Z-score: 126/253 [49.8%]). Lo que sugiere que cuando se toman en cuenta los efectos menos fuertes de los alelos de los *loci HLA-A y -C* (en comparación con el efecto dominante del *locus HLA-B*), se sigue observando un efecto aditivo importante entre los alelos HLA protectores y de riesgo individuales al coexpresarse en los individuos.

En conjunto, estos datos sugieren que los alelos HLA individuales asociados a la protección o al riesgo ejercen una fuerte influencia sobre los parámetros clínicos de VIH, incluidos los alelos con asociaciones canónicas previamente descritas, así como los nuevos alelos descritos en el presente trabajo doctoral, no dominan la respuesta inmune sino, más bien, sugieren que la contribución de los alelos HLA individuales es aditiva.

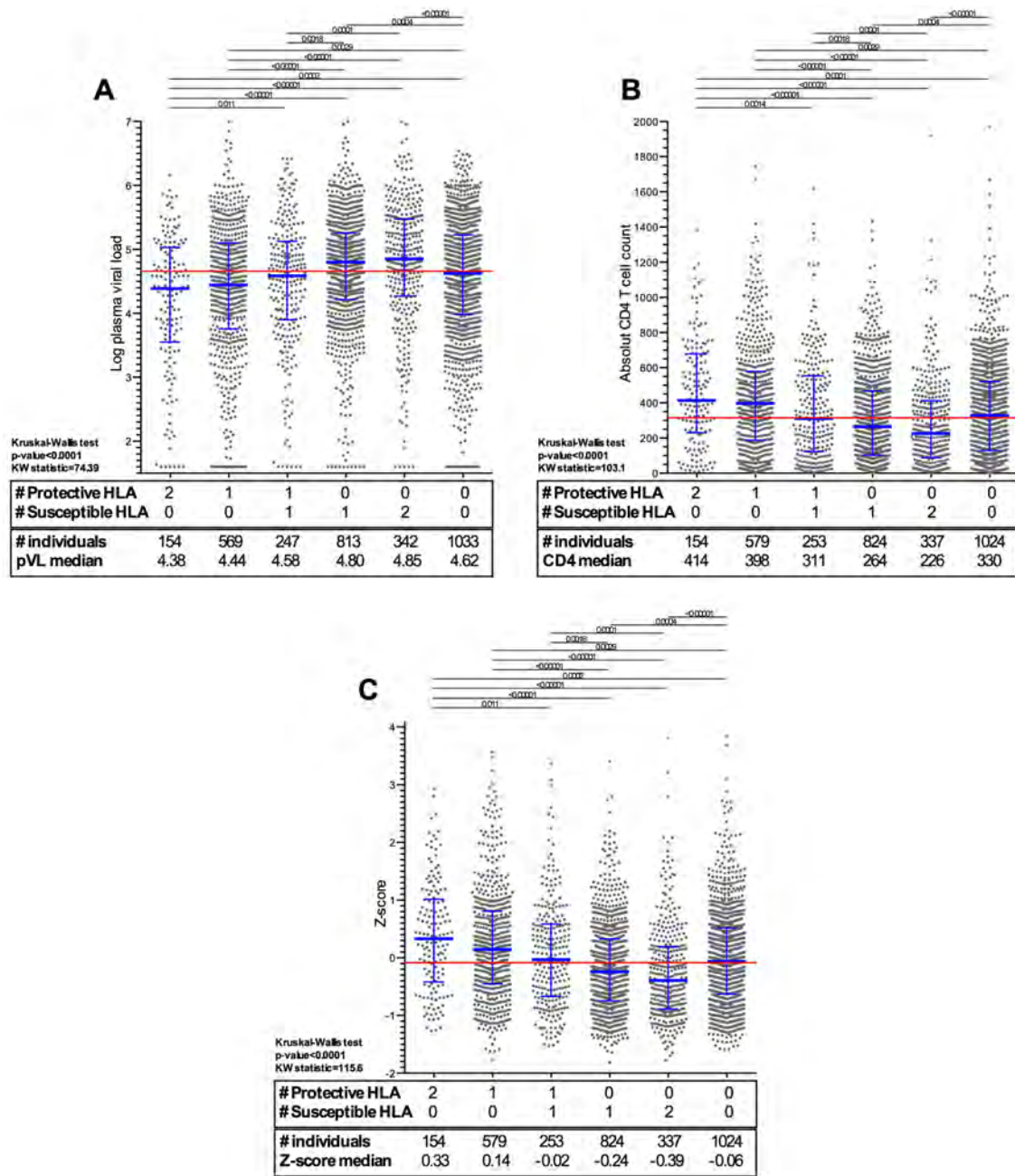
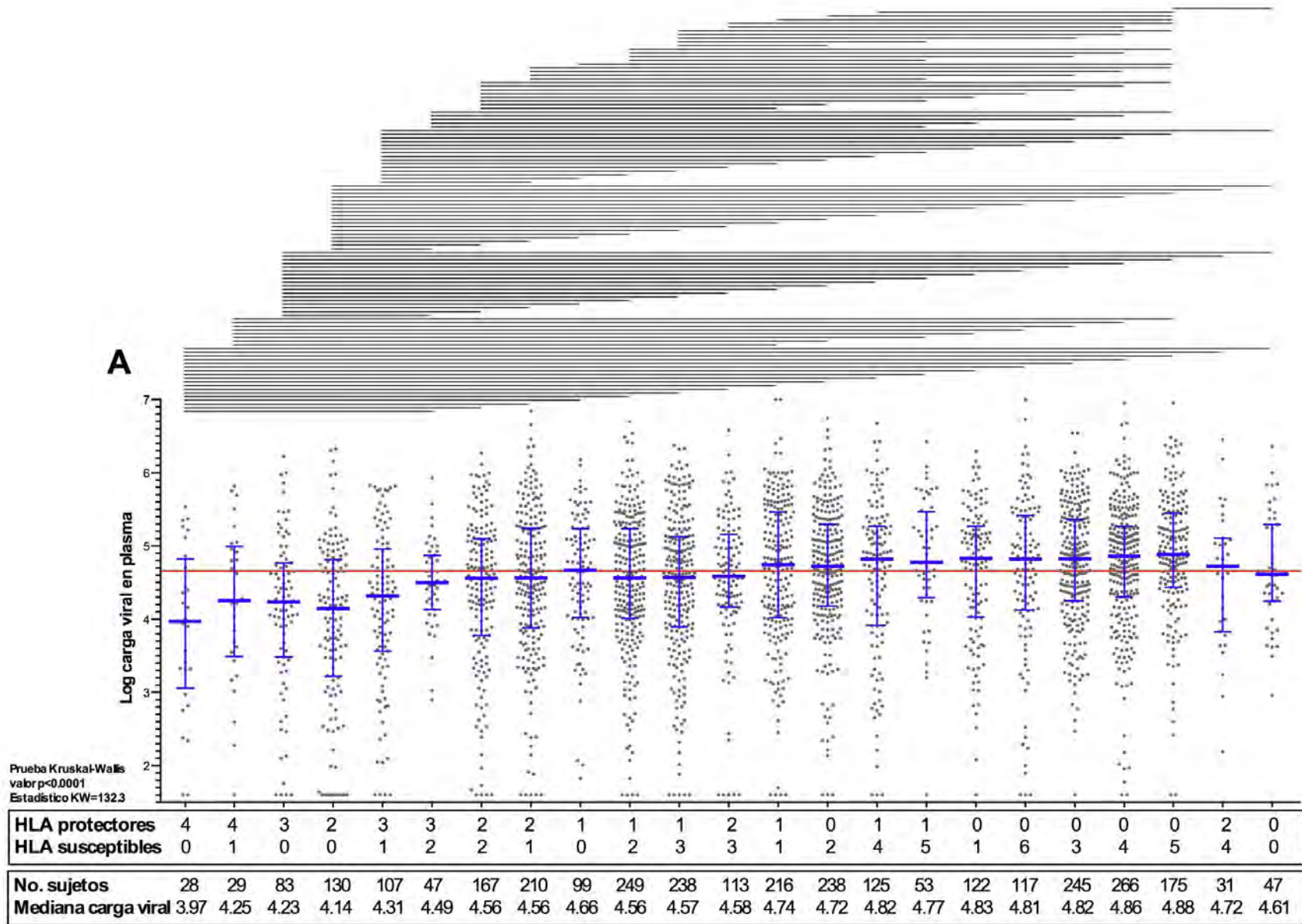
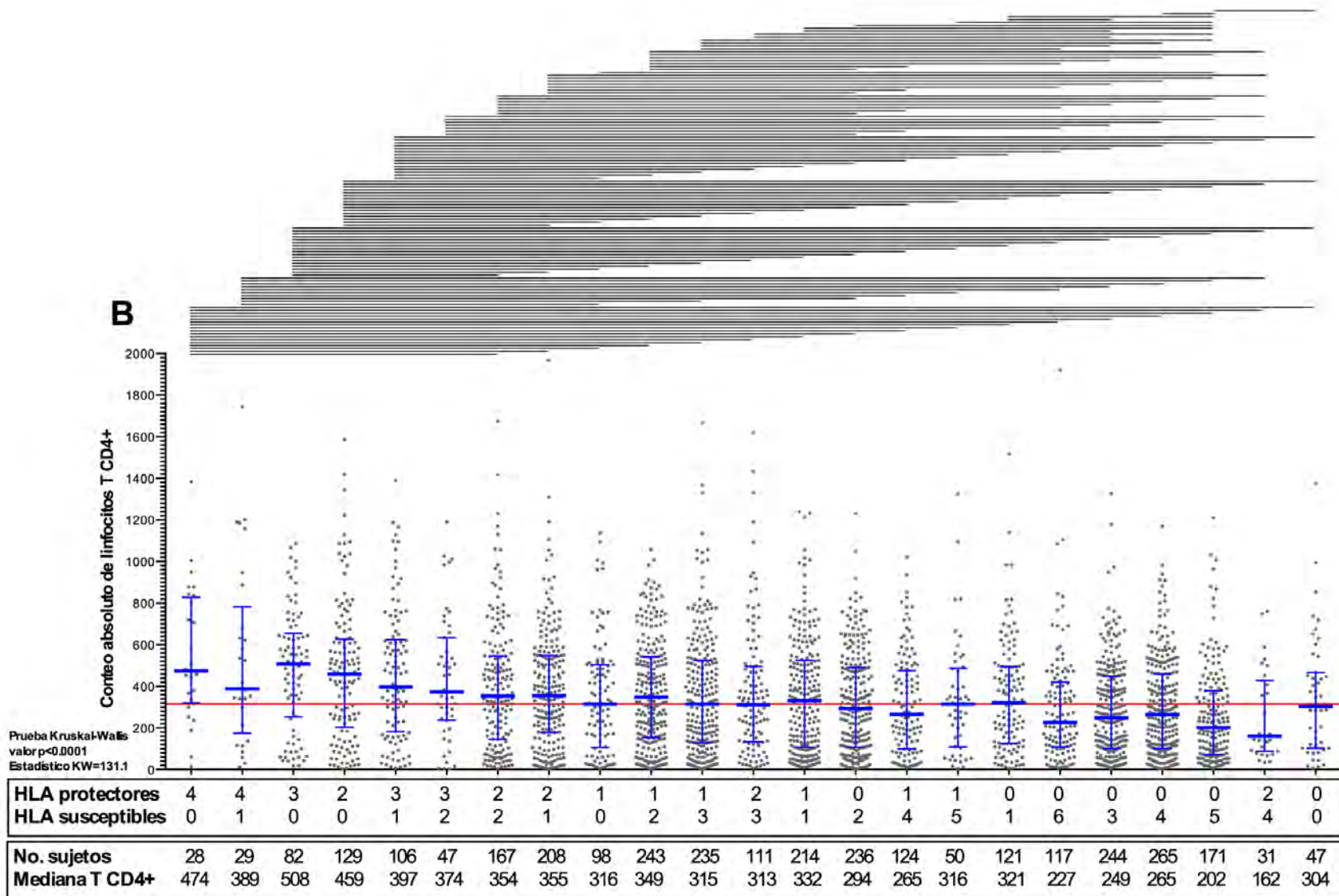


Figura 33. Efecto aditivo de los alelos *HLA-B* protectores y de riesgo.

En los paneles se muestra el efecto aditivo de los alelos protectores y de riesgo del *locus HLA-B* sobre la CVp (A), el conteo de CD4 (B) y el Z-score (C). Se tomaron como alelos protectores o de riesgo aquellos que permanecieron significativos con por lo menos un parámetro clínico (score HLA-VIIH de +1 o -1) del análisis de la Figura 27 (panel A, análisis de la cohorte combinada MEX/CAM). El último grupo de cada panel (alelos protectores y de riesgo =0) incluye a los individuos de la cohorte que no expresaron ningún alelo protector o de riesgo. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba estadística U de Mann-Whitney y la prueba Kruskal-Wallis. La mediana y el rango intercuartil (percentiles 25-75) se denotan con líneas azules para cada grupo de comparación. La mediana de la cohorte para cada parámetro clínico se denota con una línea roja.



(Figura 34. Efecto aditivo de los alelos *HLA-A*, *-B* y *-C* protectores y de riesgo.; continuación, ver pie de figura más adelante).



(Figura 34. Efecto aditivo de los alelos *HLA-A*, *-B* y *-C* protectores y de riesgo.; continuación, ver pie de figura más adelante).

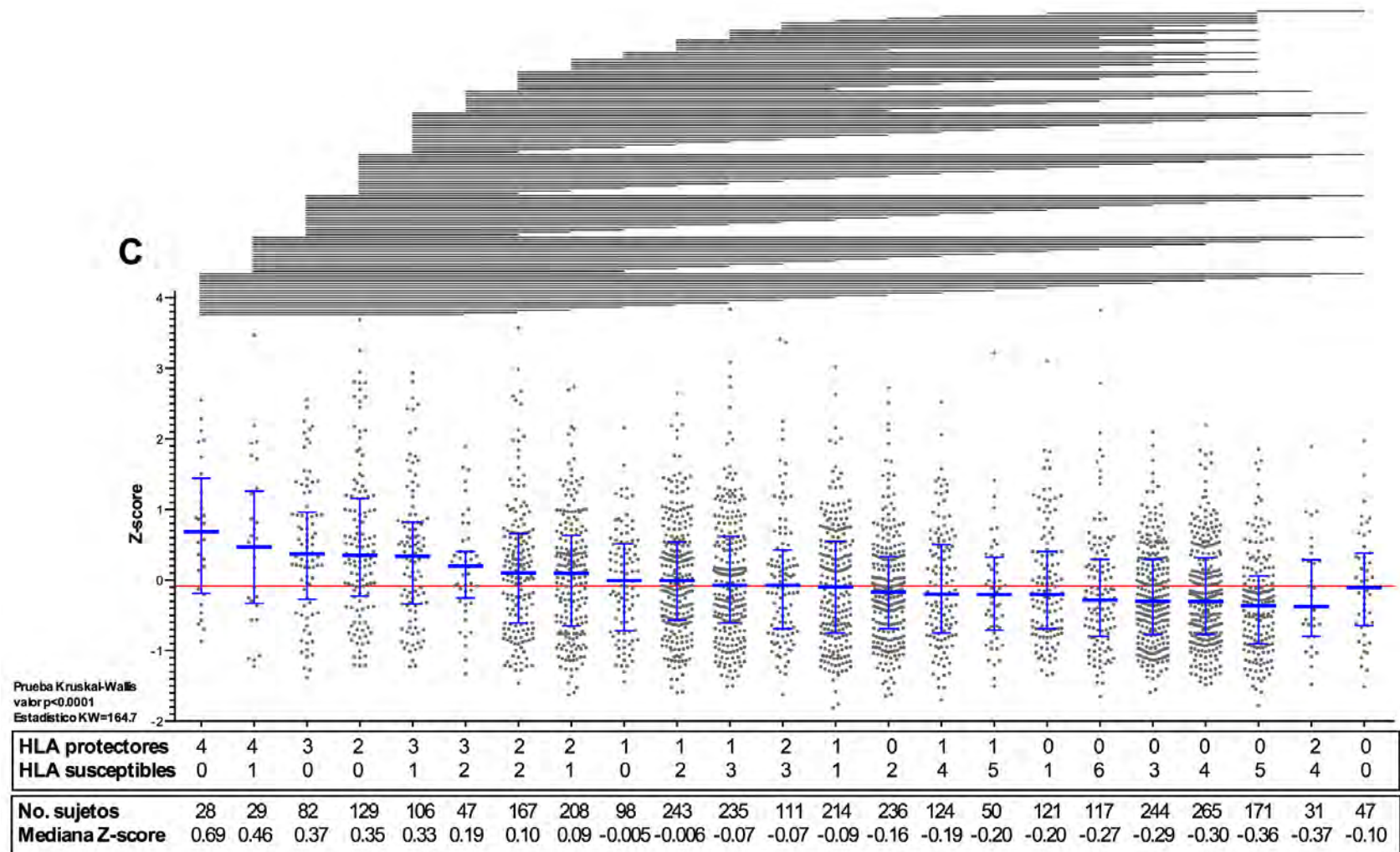


Figura 34. Efecto aditivo de los alelos *HLA-A*, *-B* y *-C* protectores y de riesgo.

En los paneles se muestra el efecto aditivo de los alelos protectores y de riesgo del *locus HLA-B* sobre la CVp (A), el conteo de CD4 (B) y el Z-score (C). Se tomaron como alelos protectores o de riesgo aquellos que permanecieron significativos con por lo menos un parámetro clínico (score HLA-VIH de +1 o -1) del análisis de la Figura 27 (panel A, análisis de la cohorte combinada MEX/CAM). El último grupo de cada panel (alelos protectores y de riesgo =0) incluye a los individuos de la cohorte que no expresaron ningún alelo protector o de riesgo. Sólo se muestran y se compararon aquellos grupos o categorías que tenían >25 observaciones. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba estadística U de Mann-Whitney (debido a que se realizaron >250 comparaciones en cada panel, los valores p se corrigieron con valores q) y la prueba Kruskal-Wallis. Las diferencias significativas entre los grupos se muestran denotados con una línea negra ($p < 0.05$, $q < 0.2$). La mediana y el rango intercuartil (percentiles 25-75) para cada grupo de comparación se denotan en líneas azules. Los grupos de los paneles A y B fueron ordenados por la mediana de Z-score del panel C. La mediana de la cohorte para cada parámetro clínico se denota con una línea roja.

7.7.2 Efectos dependientes de frecuencia HLA

A continuación, analizamos la base de datos de la cohorte MEX/CAM para buscar evidencia del efecto dependiente de frecuencia HLA o la hipótesis conocida como la ventaja de los alelos HLA raros, fenómeno que se ha descrito anteriormente en relación a la progresión a la enfermedad por VIH¹⁰⁸. Se observaron correlaciones modestas pero significativas entre las frecuencias alélicas HLA individuales y la mediana de los parámetros clínicos (CVp, CD4 y Z-score) asociada a cada alelo HLA ($n > 5$) presente en la cohorte MEX/CAM (Spearman rho: mediana Cvp = 0.2078; mediana conteo CD4 = -0.2311; mediana Z-score = -0.1909; en todos los casos $p < 0.05$; Figura 35 paneles B-D) y para los alelos asociados significativamente (puntuación o score de 5 parámetros del análisis univariable de la Figura 27 panel A) con la progresión a la enfermedad en el presente estudio (Spearman rho: mediana Cvp = 0.3973; mediana conteo CD4 = -0.4164; mediana Z-score = -0.4004; en todos los casos $p < 0.05$; Figura 35 paneles F-H). De igual manera, se observó una asociación entre la puntuación (score) de los 5 parámetros clínicos de VIH y la frecuencia alélica individual de cada alelo HLA asociado a la progresión a la enfermedad (Spearman rho: -0.3216, $p = 0.0147$; Figura 35 panel E). Esta última correlación no es significativa cuando se toman en cuenta todos los alelos HLA expresados en la cohorte (Figura 35 panel A).

Sin embargo, estos análisis son complicados por el hecho de que a nivel de cada individuo los efectos protectores de poseer un alelo raro pueden confundirse por la presencia de alelos comunes o frecuentes en cualquiera de los otros cinco alelos HLA de clase I presentes en el individuo, especialmente a la luz de los datos presentados aquí, que argumentan el efecto aditivo HLA a nivel individual. Para abordar este problema, asignamos a cada individuo de nuestra base de datos una frecuencia general o combinada de sus alelos HLA, equivalente a la suma de las frecuencias de todos sus alelos HLA individuales. Estos valores de frecuencia globales dieron una correlación débil, aunque muy significativa, con la CVp, el conteo de T CD4 y el Z-score de VIH (Spearman rho: Cvp = 0.1083; conteo CD4 = -0.1253; Z-score = -0.1328; en todos los casos $p < 0.0001$, Figura 36). Aunque este análisis busca abordar el impacto de la frecuencia global de los alelos a nivel individuo, se complica por el hecho de que, como se discutió previamente en este trabajo, los alelos HLA a menudo tienen un desequilibrio muy fuerte. En consecuencia, la posibilidad de encontrar un conjunto de alelos (y, por lo tanto, desde el punto de vista del virus, adaptándose a ellos) se relaciona tanto con las frecuencias alélicas individuales como con la fuerza del vínculo (desequilibrio de ligamiento) entre los alelos. Para compensar esto, examinamos el efecto de combinar las frecuencias de los alelos *HLA-A*, *-B* y *-C* de cada individuo por separado, ya que estos pares de alelos no pueden estar en desequilibrio de ligamiento. Al hacer esto, observamos correlaciones débiles, pero significativas, entre la frecuencia combinada de los alelos *HLA-A*, *-B* y *-C* y la CVp, el conteo de CD4 y el Z-score (rho de Spearman de la frecuencia combinada de *HLA-A*: Cvp = 0.0521; CD4 = -0.0818; Z-score = -0.0764;

frecuencia combinada *HLA-B*: CVp = 0.0539; CD4 = -0.0750; Z-score = -0.0690; frecuencia combinada *HLA-C*: CVp = 0.1172; CD4 = -0.1006; Z-score = -0.1245; en todos los casos valor $p < 0.005$; datos no mostrados en figura), lo que respalda la existencia de un efecto aditivo entre los pares de alelos del mismo *locus*. Sin embargo, nuevamente es importante notar que las tendencias son débiles ya que los valores de Spearman de rho son muy reservados.

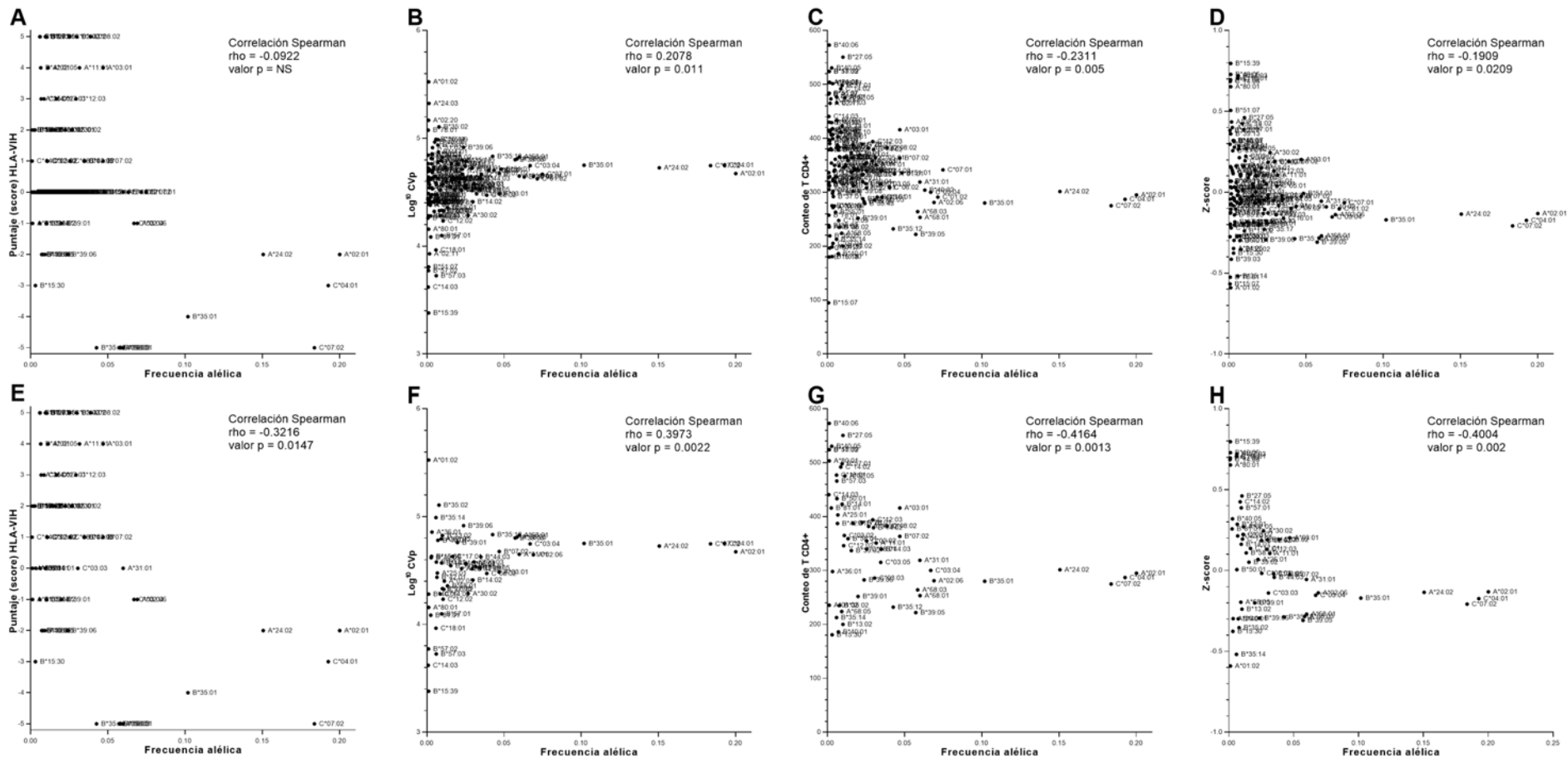


Figura 35. Efecto dependiente de frecuencia HLA (frecuencia alélica HLA vs mediana de parámetro clínico HLA)

Se muestran las gráficas de dispersión que relacionan las frecuencias alélicas HLA de todos los alelos ($n > 5$) presentes (paneles A-D) o sólo los alelos asociados significativamente (análisis univariable) con los parámetros clínicos de la Figura 27 (paneles E-H) en la cohorte MEX/CAM y la puntuación (score) de las asociaciones HLA-VIH (paneles A y E) o la mediana de CVp (paneles B y F), conteo CD4 (paneles C y G) y el Z-score (paneles D y H). Las correlaciones fueron determinadas con la prueba de rango de Spearman.

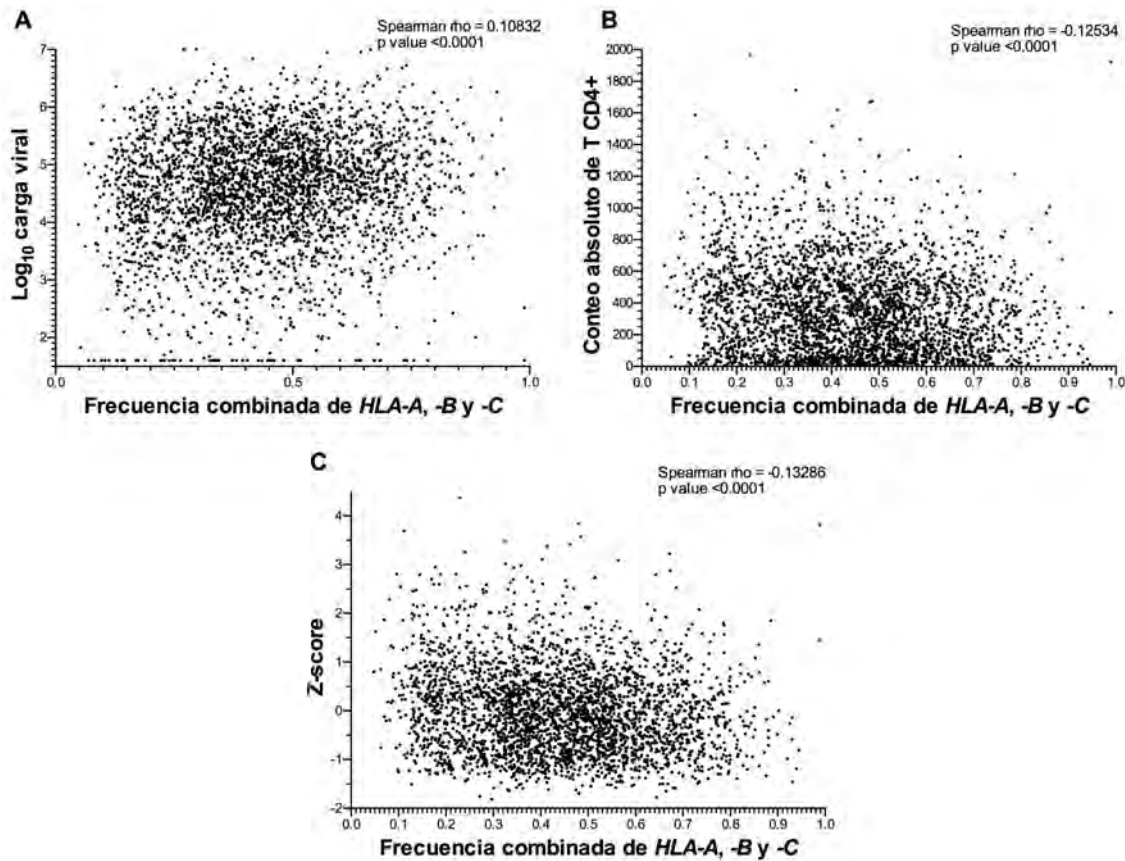


Figura 36. Efecto dependiente de frecuencia HLA (correlación frecuencia combinada HLA vs Cvp/CD4/Z-score)

Se muestran las gráficas de dispersión que relacionan la Cvp (panel A), el conteo de CD4 (panel B) y el Z-score (panel C) con la frecuencia combinada total HLA (calculada como la suma de las frecuencias de cada uno de los alelos que expresa cada individuo). Las correlaciones fueron determinadas con la prueba de rango de Spearman.

7.7.3 Ventaja de los heterocigotos HLA

Una hipótesis vinculada a la selección dependiente de frecuencia es la de la ventaja de los heterocigotos HLA, basada en el principio de que los individuos heterocigotos en los *loci* HLA pueden presentar una mayor variedad de péptidos o epítomos antigénicos que los homocigotos, lo que da como resultado una respuesta inmune más efectiva a una gran diversidad de patógenos²⁶⁸. Este fenómeno está vinculado a que entre más frecuentes son los alelos, sus homocigotos serán más frecuentes. No encontramos diferencias significativas en los valores de Cvp y el Z-score entre heterocigotos (para todos los *loci*) y homocigotos HLA (en por lo menos un *loci*) (Figura 37, panel A y C), sin embargo, si observamos una diferencia significativa entre estos grupos para el conteo de T CD4 (Figura 37, panel B; $p=0.013$). En contraste con estudios previos que resaltan la preeminencia de los linfocitos T citotóxicos (CTLs) restringidos por *HLA-B* y que encontraron que la homocigosis en *HLA-B* era más perjudicial que en *HLA-A* y *-C*¹⁰⁵, no encontramos diferencias significativas entre los homocigotos exclusivos para *HLA-B* al compararlos con los homocigotos en los *loci HLA-A* y *-C*.

Los efectos de la homocigosis acumulada también se examinaron agrupando a los individuos homocigotos en uno, dos o los tres *loci* HLA. Observamos una diferencia significativa y una tendencia entre los valores de CD4 entre los heterocigotos y los homocigotos un solo *locus* ($p=0.029$) y en dos *loci* (tendencia, $p=0.08$). Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de no encontrar diferencia significativa con el grupo de homocigotos en los 3 *loci*, debido al bajo poder estadístico dado el bajo número de individuos triple homocigotos ($n=27$).

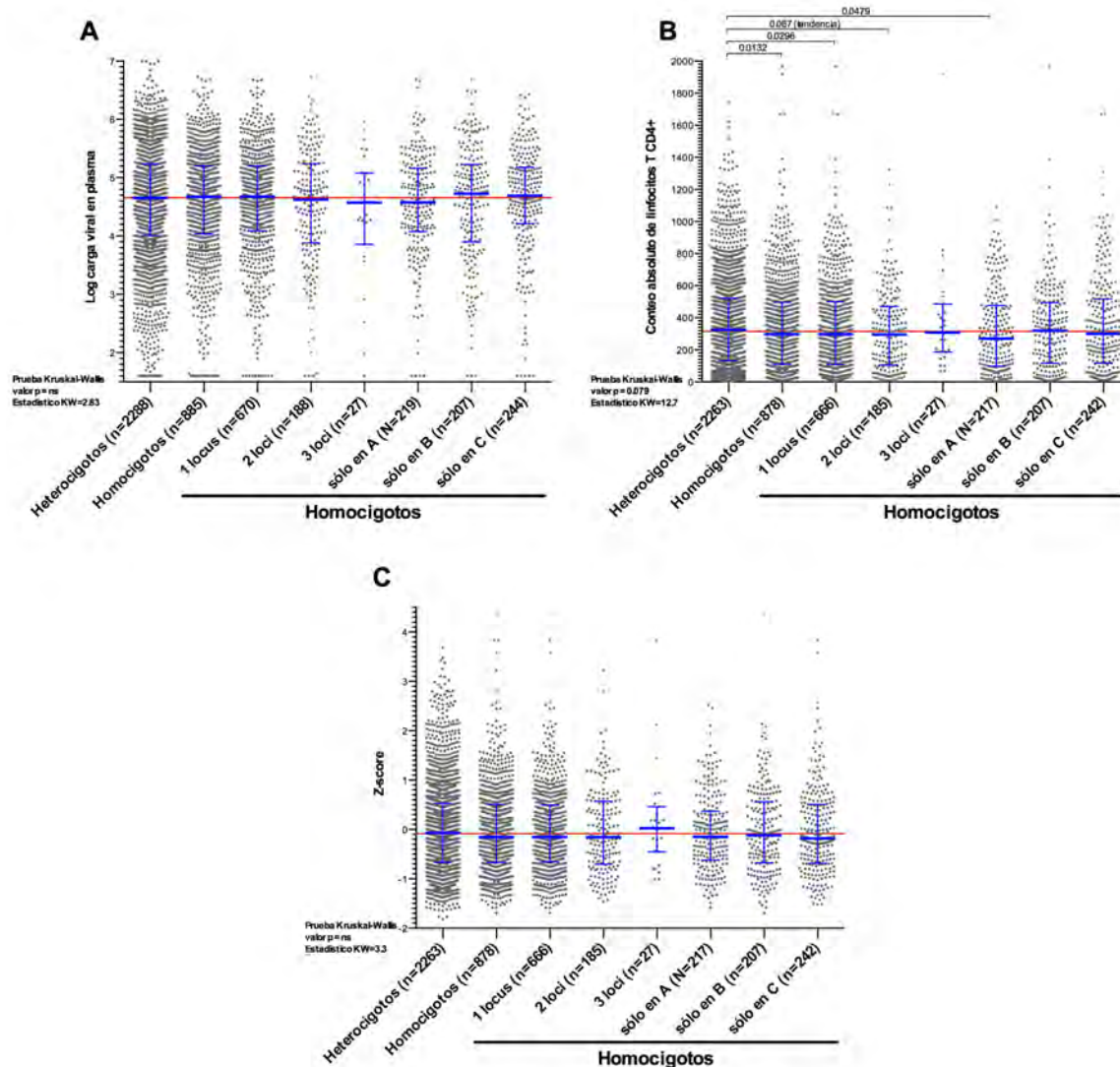


Figura 37. Ventaja de los heterocigotos HLA

Se muestra el efecto de la homocigosis sobre la CVp (panel A), el conteo de CD4 (panel B) y el Z-score (panel C). En cada panel se comparan los parámetros clínicos de los heterocigotos HLA (en los 3 *loci*) con los homocigotos para cualquier *loci*, homocigotos para uno, dos o tres *loci* y con los homocigotos exclusivamente para un *loci* en particular. Los grupos se compararon con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. La mediana y el rango intercuartil (percentiles 25-75) de cada grupo se denota en azul. La mediana poblacional del parámetro de interés se muestra con una línea roja.

7.8 Impacto de los alelos *HLA-B*35* y los grupos *B*35-PX/PY* sobre la progresión a la enfermedad por VIH en la cohorte MEX/CAM

Estudios previos han asociado consistentemente a los alelos *HLA-B*35* (en particular a los alelos del grupo *B*35-PX*) con una rápida progresión a la enfermedad por VIH-1 clado B^{105,217,228,269}. Históricamente, los alelos *HLA-B*35* se han clasificado en dos grupos basados en la preferencia de unión de aminoácidos en la posición 9 (P9 o también llamado bolsillo F [*F-pocket*]) de los péptidos que presentan. El grupo *B*35-PY* unen preferencialmente el aminoácido tirosina (Y, de allí el nombre PY) en la posición P9, mientras que el grupo de alelos conocidos como *B*35-PX* tiene una preferencia por pequeños residuos hidrofóbicos como leucina, metionina o valina, pero no son capaces de unir tirosina (de allí PX, por su preferencia de unir cualquier otro residuo, pero no tirosina)¹¹⁷. Ambos grupos tienen una preferencia por prolina en la posición 2 (P2). Los alelos del grupo *B*35-PX* (*B*35:02/03/04*) han sido asociados con una progresión rápida, mientras que los *B*35-PY* (*B*35:01/08*) se han asociado de forma neutral con la progresión a la enfermedad por VIH¹¹⁷. Los posibles mecanismos de esta asociación permanecen sin conocerse, pero han sido relacionados con la unión diferencial del receptor de unión de inmunoglobulina B2 de leucocitos (LILRB2, por sus siglas en inglés)²⁷⁰. Adicionalmente, se ha sugerido una mayor habilidad del alelo *B*35:01* (descrito como PY) de unir péptidos de la proteína viral Gag al compararlo con los alelos *B*35:02/03/04* (descritos como grupo PX), haciendo una diferencia sustancial en la progresión de la enfermedad por VIH^{167,271}.

7.8.1 Diversidad, frecuencia e impacto de los alelos *B*35* en MEX/CAM

Para elucidar estas observaciones, evaluamos el impacto de la progresión a la enfermedad por VIH de los alelos *HLA-B*35* en la cohorte MEX/CAM (n=3213). Los alelos del grupo alélico *HLA-B*35* son los más frecuentes del locus *HLA-B* en la cohorte MEX/CAM (aproximadamente un tercio de los individuos en la cohorte expresan algún subtipo *B*35*). Interesantemente, la misma observación puede hacerse en individuos mexicanos no infectados por VIH²³¹. Además, este grupo alélico presenta una gran diversidad de alelos que no se han estudiado antes en este contexto, haciendo estas cohortes ideales para comprobar la hipótesis de *B*35-PY/PX* en la progresión a la enfermedad por VIH. Brevemente, en la cohorte MEX/CAM se observaron 27 alelos distintos del grupo alélico *B*35*, de los cuales 10 alelos (*B*35:01/02/03/08/12/14/16/17/20/43*) tenían un n>10 (frecuencia alélica ~0.0015). En la Figura 38 comparamos las frecuencias alélicas de los subtipos *B*35* (n>10) entre la cohorte MEX y CAM. Los alelos *B*35:14/16/17* se encontraron en significativamente mayor frecuencia en MEX, y los alelos *B*35:01/20/43* eran significativamente más frecuentes en CAM. Como se puede observar en la Figura 38, de los alelos frecuentemente expresados en la cohorte, los subtipos *B*35:01/08* han sido previamente clasificados

como *B*35-PY* y los subtipos *B*35:02/03* como *B*35-PX*. A los alelos *B*35* amerindios restantes (*B*35:12/14/16/17/20/43*) no se les ha descrito los motivos de reconocimiento HLA (preferencia de aminoácidos en los sitios de anclaje P2 y P9).

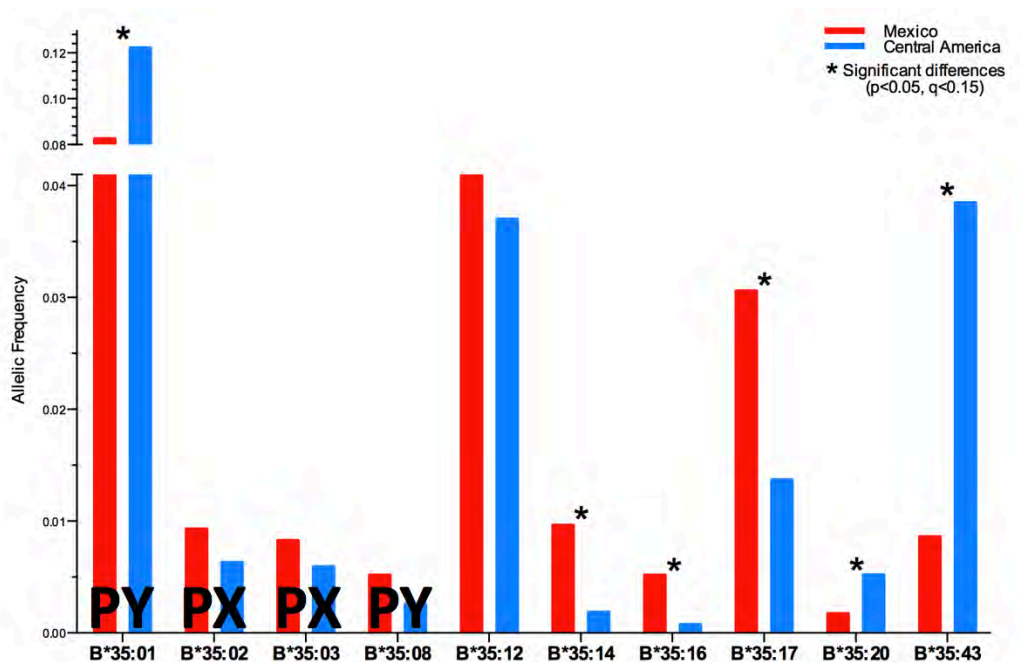


Figura 38. Comparación de frecuencias alélicas de los alelos *B*35* con $n > 10$ en las cohortes MEX y CAM.

Se compararon las frecuencias alélicas de los alelos *B*35* ($n > 10$) entre la cohorte MEX (rojo) y la cohorte CAM (azul) utilizando pruebas exactas de Fisher corregidas con valores q . Con (*) se denotan las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, $q < 0.2$) para las frecuencias comparadas. Los alelos previamente descritos como *B*35-PX* o *PY* se encuentran denotados sobre las barras de frecuencias.

Con el objetivo de evaluar el impacto de los alelos *B*35* específicos sobre la progresión a la enfermedad por VIH, comparamos las CVp y los conteos de T CD4 (los dos parámetros clínicos utilizados como parámetros independientes de la progresión a la enfermedad^{74,247}) entre los individuos positivos y negativos para cada uno de los alelos *B*35* (semejante a como se realizó el análisis univariable [Figura 27] en el presente trabajo doctoral). En la Figura 39, se pueden observar que a excepción de 3 alelos (*B*35:16* [mediana CVp=4.41], *B*35:08* [4.53] y *B*35:43* [4.62]), los alelos *B*35* muestran una mediana de CVp mayor a la mediana poblacional (4.65 Log^{10} copias RNA de VIH/ml), mientras que para el conteo de T CD4 a excepción de 2 alelos (*B*35:03* [mediana CD4=378] y *B*35:20* [321]), los alelos *B*35* tienen una mediana menor a la mediana poblacional (315 células T CD4+/ μl). El alelo previamente descrito como de riesgo en algunos contextos^{105,134,216,219,227,228}, *B*35:01* (el más frecuente en MEX/CAM [ver Figura 23] y previamente descrito como *PY*¹¹⁷ [asociación neutra]) se asoció con valores altos de CVp (mediana CVp=4.75, $p=0.0406$, $q=0.16$) y con valores bajos del conteo de CD4 (mediana CD4=280, $p=0.018$, $q=0.10$), mientras que el alelo *B*35:02*^{105,117,134,195,219,228} (miembro del grupo de riesgo *PX*¹¹⁷)

se asoció a valores altos de CVp (mediana CVp=5.10, $p=0.0021$, $q=0.02$, mediana más alta de los alelos *B*35* y de los alelos *HLA-B* [Figura 25]). Cómo se demostró previamente en el presente trabajo doctoral, el alelo amerindio *B*35:12*, que es segundo alelo *B*35* más frecuente en MEX/CAM y que no se ha descrito en el contexto de los grupos *B*35-PX/PY*, se asoció significativamente con una CVp alta (mediana CVp=4.83, $p=0.0002$, $q=0.003$) y conteos de CD4 bajos (mediana CD4=232.1, $p=1.0E-04$, $q=0.003$) (Figura 39). Estos resultados sugieren que los subtipos de *B*35* se asocian con la progresión a la enfermedad independientemente de su clasificación al agrupamiento *B*35-PX/PY*, revelando que los alelos PY pueden ser susceptibles a la enfermedad por VIH y que concurren diferencias de asociación dentro de los grupos PX/PY.

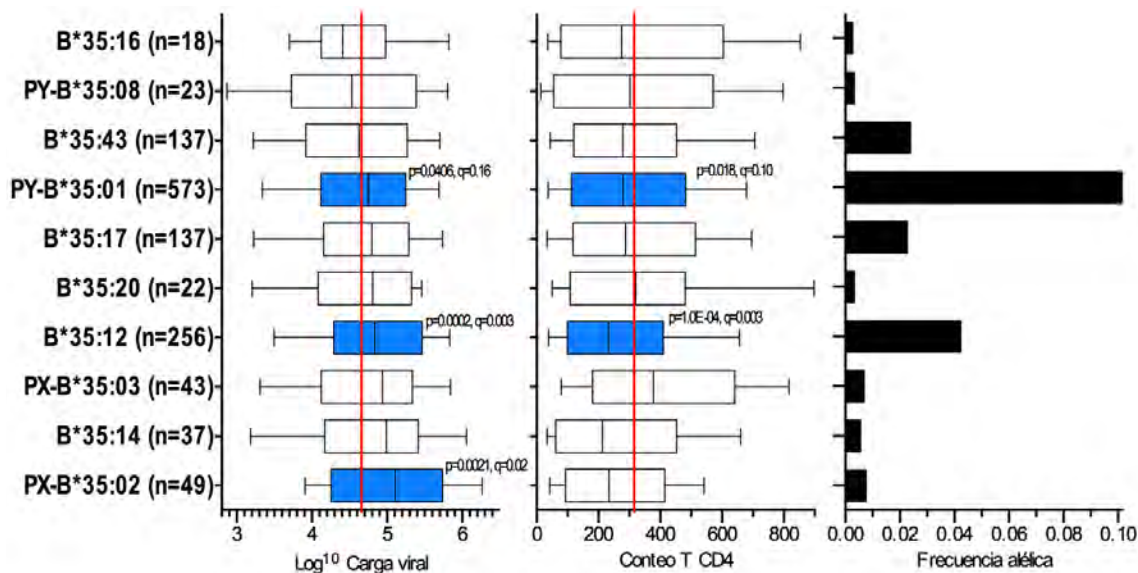


Figura 39. Comparación parámetros clínicos (CVp y conteo de CD4) de VIH asociados a los alelos *B*35* en la cohorte MEX/CAM.

En los dos paneles de la izquierda se muestra la distribución de cargas virales y conteos de T CD4 asociados a los alelos *B*35* con $n > 10$ ($FA \sim 0.0015$). Los alelos aparecen ordenados por su mediana de CVp. Se denotan los alelos descritos previamente como *B*35-PX* o *PY*. Los diagramas de caja (*box plots*) denotan la mediana y los percentiles 25 y 75, y los bigotes (*whiskers*) muestran los percentiles 10-90. En azul se denotan las diferencias significativas ($p < 0.05$, $q < 0.2$, prueba U de Mann-Whitney de dos colas) entre las CVp o los conteos de CD4 de los individuos positivos versus los negativos para un alelo en particular. La línea vertical de color rojo muestra la mediana poblacional del parámetro clínico. En el panel de la derecha se muestran las frecuencias alélicas de los alelos *B*35* en la cohorte MEX/CAM.

7.8.2 Efecto aditivo de los alelos *B*35*

Existen evidencias descritas previamente del efecto aditivo de los alelos *HLA*²²³, por lo que quisimos investigar este efecto en los alelos *B*35* de la cohorte MEX/CAM al comparar los parámetros clínicos entre los individuos que coexpresan uno y dos alelos *B*35*. Encontramos diferencias significativas en el control viral (CVp) y en la preservación de los T CD4 en los individuos que expresan un alelo *B*35* cualquiera y aquellos que coexpresan dos alelos *B*35* cualquiera ($p=0.049$ y 0.0044 para CVp y el conteo CD4, respectivamente), a su vez estos últimos eran significativamente diferentes de los que no expresaban ningún alelo *B*35* (Figura 40, panel A y B; Kruskal-

Wallis $p < 0.0001$ para CVp y conteo CD4), sugiriendo que los individuos positivos para dos alelos *B*35* cualquiera están en desventaja en comparación con individuos positivos para un solo alelo *B*35* y que estos a su vez se encuentran en desventaja con los que no expresan ningún alelo *B*35*.

Para evaluar si este efecto se debe a subtipos *B*35* específicos, confrontamos los parámetros clínicos entre los individuos homocigotos y heterocigotos para cada uno de los alelos *B*35* más frecuentes (*B*35:01/12/17/43*; los alelos infrecuentes no se compararon debido al limitado poder estadístico dado el bajo número de individuos homocigotos) en la cohorte MEX/CAM (Figura 40, panel C y D). En esta comparación se excluyeron a los individuos dobles positivos para alelos *B*35* distintos (para evitar el efecto de los homocigotos observado en las comparaciones de Figura 40, panel A y B), es decir, sólo se compararon los homocigotos y heterocigotos para un alelo en particular. En este análisis, sólo encontramos dos diferencias, una diferencia modesta (aunque no significativa, tendencia de $p = 0.055$) entre los valores de CVp de los homocigotos y heterocigotos para el alelo amerindio *B*35:17* (relativamente frecuente en la cohorte MEX [Figura 32 y Figura 39 para ver las FA]); y una diferencia significativa ($p = 0.035$) en los valores del conteo de CD4 entre los homocigotos y heterocigotos para el alelo amerindio previamente asociado con la progresión a la enfermedad *B*35:12* en el presente trabajo doctoral (Figura 40, panel C y D).

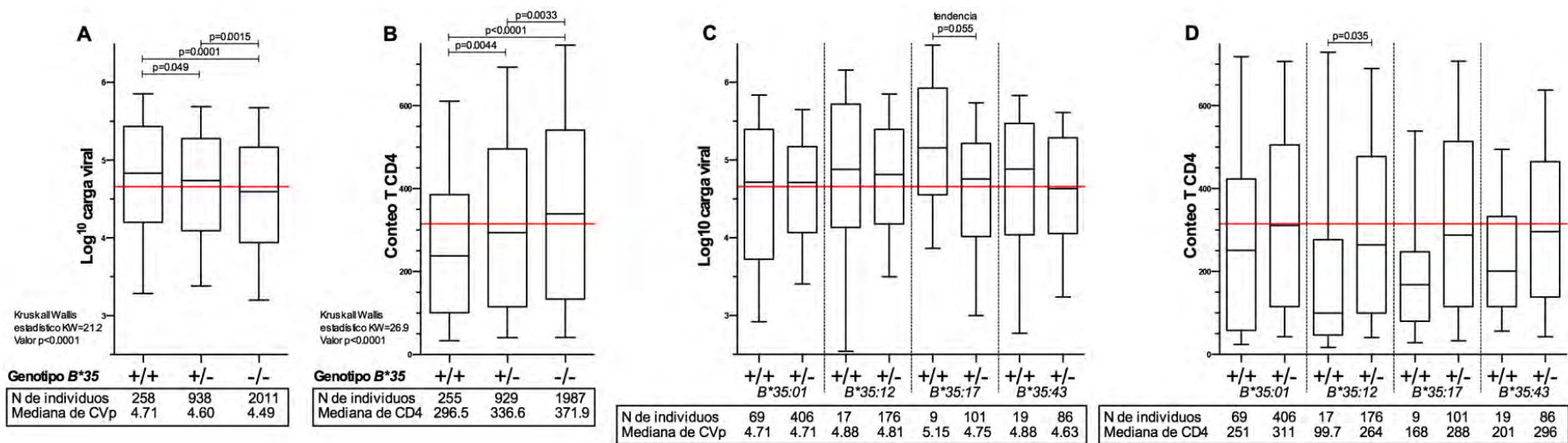


Figura 40. Efecto aditivo de los alelos de riesgo B*35 en la cohorte MEX/CAM.

En los paneles A y B se compararon los parámetros típicos de progresión a la enfermedad (CVp y conteo de T CD4) entre los individuos que coexpresan 2 copias (+/+) de cualquier alelo B*35, una sola copia B*35 (+/-) y los negativos (-/-) para cualquier B*35. En los paneles C y D se compararon los parámetros clínicos entre quienes son homocigotos (+/+) y heterocigotos (+/-) para los alelos B*35 específicos más frecuentes (los alelos B*35 infrecuentes no se compararon debido al bajo número de individuos homocigotos). En esta comparación se excluyeron a los individuos dobles positivos para alelos B*35 distintos (para evitar el efecto de los homocigotos observado en las comparaciones de los paneles A y B), es decir, sólo se compararon los homocigotos y heterocigotos para un alelo en particular. Las comparaciones se realizaron empleando la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Adicionalmente, para los paneles A y B se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. Las líneas rojas horizontales denotan las medianas de los parámetros clínicos (mediana CVp = 4.657 log¹⁰ copias RNA de VIH/ml de plasma; mediana conteo de CD4 = 315 células T CD4+/ μ l).

7.8.3 Los grupos *B*35-PX* y *PY* se asocian a la progresión al riesgo de progresión a la enfermedad

Finalmente, comparamos los parámetros clínicos entre los alelos descritos previamente como *B*35-PX* (*B*35:02/03/04*), *B*35-PY* (*B*35:01/08*)¹¹⁷, los alelos *B*35* no definidos previamente en el contexto *PX/PY* y los negativos a *B*35*. Los grupos se compararon entre ellos y con su negativo (por ejemplo, *B*35-PX*⁺ vs *B*35-PX*⁻, *B*35-PY*⁺ vs *B*35-PY*⁻, etc.). Para eliminar el efecto confusor que resulta de los homocigotos *HLA*, se excluyeron los individuos homocigotos para *HLA-B* y los que expresaban dos alelos de cualquier alelo *B*35* (es decir, se compararon sólo los heterocigotos para *B*35*). En contraste con trabajos previos¹¹⁷, no se encontraron diferencias significativas en la CVp o el conteo de CD4 entre los grupos *B*35-PX* y *PY*, sólo se encontraron diferencias modestas asociadas a valores mayores de CVp en el grupo *B*35-PX* (al compararlo con *PY* una tendencia, $p=0.074$; con *B*35-PX*⁻, $p=0.043$; y con los *B*35*⁻, $p=0.021$) (Figura 41, panel A y B). Notablemente, observamos diferencias significativas entre los *B*35* no definidos previamente como *PX/PY* y su negativo ($p=0.017$ [CVp] y $p=0.0104$ [CD4]) y con los *B*35* negativos (CVp $p=0.0024$ y CD4 $p=0.0015$) (Figura 41, panel A y B), sugiriendo que los alelos no previamente descritos como *PX/PY* (en particular *B*35:12* [nueva asociación de riesgo]) presentan una asociación de riesgo con la progresión a la enfermedad por VIH.

En virtud de su similitud con otros miembros de los grupos *B*35-PX* (notablemente *B*35:02/03/04*) y *B*35-PY* (*B*35:01/08*), en las posiciones 114 y 116 del sitio de unión a péptido de la molécula *HLA-B*, los alelos amerindios *B*35* previamente no definidos como *PX/PY* se clasificaron como miembros putativos de dichos grupos. En consecuencia, los alelos que tenían asparagina (N) en posición 114 y tirosina o fenilalanina (Y/F) en posición 116 se clasificaron como *PX* putativos (*B*35:06/12/22/31*), y los alelos con ácido aspártico (D) en posición 114 y serina (S) en posición 116 se clasificaron como *PY* putativos (*B*35:05/10/11/14/16/17/19/20/23/24/26/27/28/30/43/45/48/49*) (ver Figura 42). Al comparar los parámetros clínicos entre los *B*35-PX* y *PY* descritos y putativos (excluyendo el efecto confusor de los homocigotos en *HLA-B* y para *B*35*), encontramos diferencias significativas en la CVp ($p=0.015$) entre los grupos *B*35-PX* y *PY* (no así para el conteo de CD4, $p=0.5011$) (Figura 41, panel C y D). Ambos grupos *B*35-PX* y *PY* mostraron una CVp más alta ($p=0.0002$ y 0.0591 [tendencia], respectivamente) y conteos de CD4 más bajos ($p=0.0155$ y 0.012 , respectivamente) que los individuos negativos a cualquier alelo *B*35*. De igual manera, ambos grupos mostraron diferencias significativas con su negativo (*PX*⁺ vs *PX*⁻: CVp $p=0.0004$, CD4 $p=0.048$; *PY*⁺ vs *PY*⁻: CVp $p=NS$, CD4 $p=0.037$), sugiriendo que ambos grupos de alelos se asocian con el riesgo de progresión a la enfermedad (Figura 41, panel C y D). En conjunto estos datos sugieren, que los alelos *B*35-PX* (descritos y putativos) se asociaron con un mayor riesgo con los parámetros clínicos al compararlos con los alelos *B*35-PY*

(descritos y putativos), pero también este último grupo se asocia de manera perjudicial o de riesgo con la progresión a la enfermedad por VIH.

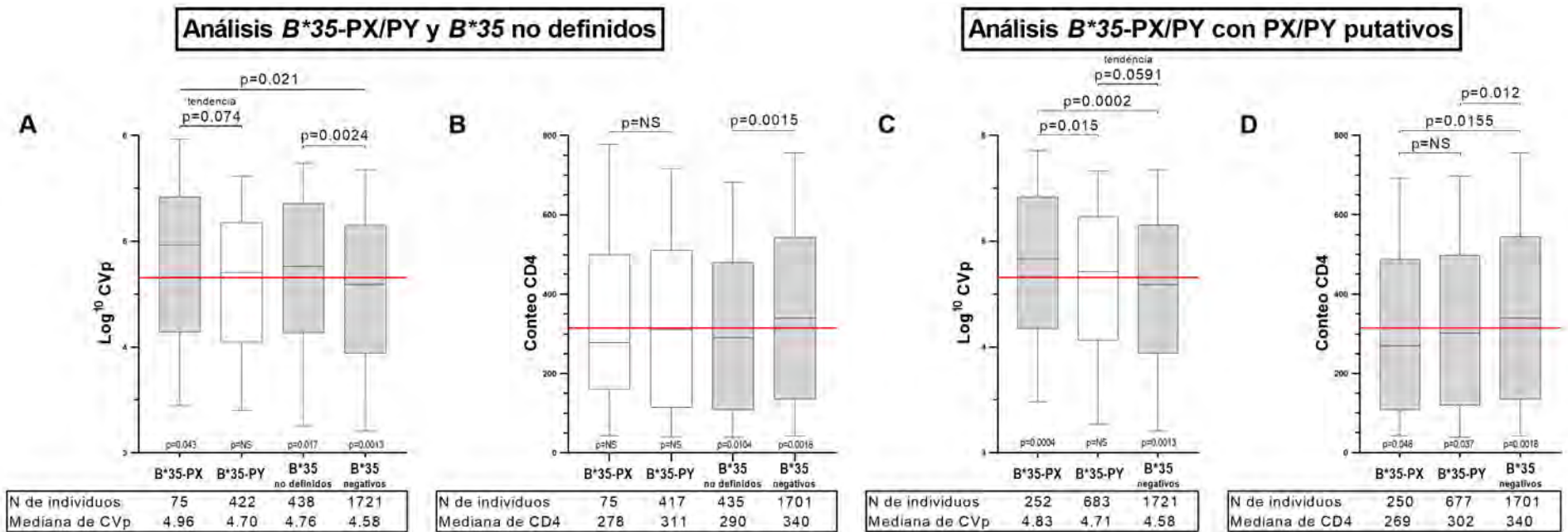


Figura 41. Comparación de parámetros clínicos entre los grupos B*35-PX/PY.

En los paneles A y B se compararon las cargas virales de VIH y los conteos de T CD4 entre los alelos descritos como B*35-PX (B*35:02/03/04) y PY (B*35:01/08) y los alelos B*35 no definidos (demás alelos B*35). En los paneles C y D se compararon los grupos B*35-PX/PY cuando se incluyeron a los alelos B*35 putativos para cada grupo tomando en cuenta las posiciones 114 y 116 del surco de unión a péptido HLA (ver Figura 42). Se muestran en gris las gráficas de cajas (box plots) con diferencias significativas cuando se compararon de manera excluyente con su negativo (por ejemplo, las CVp/CD4 se compararon entre los B*35-PY+ y los B*35-PY-, B*35-PY+ vs B*35-PY-, etc.; el valor p se encuentra debajo de cada grupo). Para evitar efectos confusores que resultan de la homocigosis HLA, se excluyeron en todos los grupos los individuos homocigotos para HLA-B y los individuos dobles positivos para cualquier alelo B*35. Las comparaciones se realizaron empleando la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Adicionalmente, para los paneles A y B se realizó la prueba Kruskal-Wallis. Las líneas rojas horizontales denotan las medianas de los parámetros clínicos de interés.

| Grupo PX/PY | Alelo B*35 con n>10 | aa en surco HLA de unión a péptido | | aa de preferencia de anclaje en el epítipo | |
|----------------------|----------------------------|---------------------------------------|--------------|---|----|
| | | posición 114 | posición 116 | P2 | P9 |
| B*35-PX | B*35:02 | N | Y | P | X |
| | B*35:03 | - | F | P | X |
| | B*35:04 | - | - | P | X |
| B*35-PX putativos | B*35:12 | - | - | P | X |
| | 3 otros B*35 (n<10) | - | F/Y | P | X |
| B*35-PY | B*35:01 | D | S | P | Y |
| | B*35:08 | - | - | P | Y |
| B*35-PY putativos | B*35:14 | - | - | P | Y |
| | B*35:16 | - | - | P | Y |
| | B*35:17 | - | - | P | Y |
| | B*35:20 | - | - | P | Y |
| | B*35:43 | - | - | P | Y |
| | 13 otros B*35 (n<10) | - | - | P | Y |

Figura 42. Alineamiento de aminoácidos en las posiciones 114 y 116 del surco de unión a péptido y aa de anclaje de preferencia de los alelos B*35 expresados en la cohorte MEX/CAM.

Se muestra el alineamiento de aminoácidos (aa) en las posiciones 114 y 116 del sitio de unión a péptido en las posiciones de las moléculas B*35 descritas previamente como PX o PY, así como su preferencia de aminoácido en su motivo de reconocimiento en las dos principales posiciones de anclaje P2 y P9 (alelos y aminoácidos denotados en color negro). Denotados en rojo se muestran los alelos B*35 que no se han descrito como PX o PY y por su similitud en las posiciones 114 y 116 se clasificaron como B*35-PX o PY putativos, de esta manera los alelos que tenían asparagina (N) en posición 114 y tirosina o fenilalanina (Y/F) en posición 116 se clasificaron como PX putativos (B*35:06/12/22/31); y los alelos con ácido aspártico (D) en posición 114 y serina (S) en posición 116 se clasificaron como PY putativos (B*35:05/10/11/14/16/17/19/20/23/24/26/27/28/30/43/45/48/49). Y = tirosina, X = leucina, metionina o valina, pero no tirosina.

7.9 Caracterización de epítomos de VIH restringidos por HLA-B*39

Desde que se describieron por nuestro grupo de investigación en el 2009²⁶⁶, las primeras distribuciones de frecuencias alélicas de los *loci* HLA de clase I en VIH⁺ mexicanos (n=297), destacó la alta frecuencia del grupo alélico amerindio B*39 en comparación con las cohortes de referencia caucásicas HOMER e IHAC (ambas VIH⁺, 7 veces más frecuente en la cohorte mexicana vs las cohortes caucásicas, p<0.05 y q<0.2 en ambos casos) y con una cohorte de mexicanos VIH negativos²³¹ (p<0.000003, q<0.00002). En ese momento quedaba por confirmar si el grupo alélico B*39 representaba un factor de riesgo para la infección por VIH en México, ya que la alta frecuencia de este grupo alélico podría reflejar un fenómeno epidemiológico en donde este grupo de alelos HLA estarían enriquecidos en los sectores más afectados de la población infectada por VIH o simplemente sea un sesgo de muestreo de los individuos incluidos en cualquiera de los dos estudios. Notablemente, en el presente estudio doctoral distinguimos las mismas conclusiones con respecto a la frecuencia del grupo alélico B*39, la frecuencia del mismo en las cohortes MEX/CAM, MEX y CAM fue 4.95, 5.97 y 3.92 (respectivamente) veces mayores que la expresada en la cohorte de referencia mayoritariamente caucásica HOMER (FA: 0.1417 vs 0.0283, 0.1691 vs 0.0283 y 0.1111 vs 0.0283, respectivamente; pruebas exactas de Fisher, p<0.0001 y q<0.2 en

todos los casos). Cuando se compararon los 5 parámetros clínicos de VIH usados en este trabajo entre los *B*39+* (n=901) y los *B*39-* (n=2,312) de la cohorte MEX/CAM, encontramos que el expresar *B*39* está asociado al riesgo de la progresión a la enfermedad al encontrarse asociado significativamente con todos los parámetros (score HLA-VIH de -5; pVL p=0.019, q=0.11; CD4 p=4E-05, q=0.001; Zscore p=1E-04, q=0.002; %CD4 p=0.003, q=0.03; CD4/CD8 p=4E-04, q=0.007; datos no mostrados antes en figura o tabla en el presente trabajo). Los resultados mostrados en la presente tesis doctoral sugieren fuertemente que los subtipos *B*39* que dirigen la previa asociación de riesgo incluyen a los subtipos asociados individualmente con el riesgo a la progresión *B*39:05*, *B*39:01* y *B*39:06*. Además, encontramos que no todos los subtipos de *B*39* se asociaban con un riesgo, por ejemplo, el subtipo menos frecuente *B*39:02* está asociado con la protección hacia la progresión a la enfermedad en las cohortes MEX/CAM y MEX.

Los linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTLs) son capaces de ejercer presión selectiva al reconocer epítomos a lo largo de todo el proteoma de VIH, esto se comprobado en estudios poblacionales en donde se encontraron respuestas de EliSpot a todo el proteoma de VIH en distintas poblaciones con diferentes contextos inmunogenéticos²⁵² (por ejemplo, al mostrar distintas distribuciones HLA de clase I). De igual manera se ha observado que los alelos HLA están dejando una huella sobre la secuencia del VIH a nivel poblacional al acumularse mutaciones de escape en poblaciones, incluida la presente cohorte MEX^{216,233,234,244,272,273}. Se han caracterizado un alto número de epítomos de CTLs de VIH, restringidos por los alelos *B*27:05* y *B*57:01*²⁷⁴, así como el para el grupo alélico *B*35*²⁷¹, lo cual ha permitido estudiar las respuestas citotóxicas que dan como resultado un curso clínico de la infección específico. Sin embargo, para el grupo alélico *HLA-B*39* no se han estudiado sus respuestas específicas de CTLs, en específico para los subtipos expresados en mestizos latinoamericanos. A nuestro conocimiento sólo se conocen 3 epítomos del subtipo B de VIH-1 y 23 para el subtipo C (Tabla 8). Todos estos epítomos han sido encontrados en poblaciones mayoritariamente de origen africano y están restringidos por subtipos de *B*39* típicos orientales/amerindios (*B*39:01*) o africanos (*B*39:10*). De igual manera, sólo se conocen los motivos de reconocimiento (los aminoácidos que preferencialmente une una molécula HLA en los sitios de anclaje) de los subtipos *B*39:01*, *B*39:02* y *B*39:09* (mostrados en Tabla 9). La caracterización de las respuestas inmunes restringidas por este grupo de alelos será relevante para el entendimiento del control inmune por *B*39* y es de relevancia para el diseño de vacunas.

Tabla 8. Epítomos de VIH-1 restringidos por alelos B*39 descritos previamente por ensayos de EliSpot

| Subtipo VIH-1 | Posición en HXB2 | Secuencia epítopo | Alelo restrictor | Referencia |
|---------------|------------------------------------|-------------------|------------------|---|
| B | Gag (180-188), p24 (48-56) | TPQDLNTML | B*39:10 | Kloverpris 2016 ²⁷⁴ , Zhai 2008 ²⁷⁵ |
| B | Gag (193-201), p24 (61-69) | GHQAAMQML | B*39:01 | Zhai 2008 ²⁷⁵ , Llano 2013 ²⁷⁶ |
| B | Gag (216-224), p24 (84-92) | HPVHAGPIA | B39 | Zhai 2008 ²⁷⁵ |
| C | Gag (144-152), p24 (12-20) | HQAISPRTL | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Gag (160-168), p24(28-36) | E EKAFSPEV | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Gag (180-188), p24(48-56) | TPQDLNTML | B*39:10 | Kloverpris 2015 ²⁷⁴ |
| C | Gag (216-224), p24 (84-92) | HPVHAGPIA | B*39:10 | Kiepiela 2007 ²⁷⁸ |
| C | Gag (325-337), p24 (193-205) | NANPDCKTILRAL | B*39:10 | Matthews 2008 ²⁷⁹ |
| C | Gag (327-337), p24 (195-205) | NPDKTILRAL | B*39:10 | Kiepiela 2007 ²⁷⁸ |
| C | Gag (352-359), p24 (220-227) | GVGGPGHK | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Gag (364-373), p17 (1-10) | AEAMSQVNS | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Pol (156-171), RT (1-16) | PISPIETVPVKLPGM | B*39:10 | Kiepiela 2007 ²⁷⁸ |
| C | Pol (304-314), RT (149-159) | LPQGWKGPSPAI | B*39:10 | Kiepiela 2007 ²⁷⁸ |
| C | Pol (311-319), RT (156-164) | SPAIFQSSM | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Pol (642-658), RT (487-503) | QDSGSEVNIVTDSQYAL | B*39:10 | Matthews 2008 ²⁷⁹ |
| C | Pol (647-661), RT (492-506) | EVNIVTDSQYALGII | B*39:10 | Kiepiela 2007 ²⁷⁸ |
| C | Pol (650-658), RT(495-503) | IVTDSQYAL | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Pol (657-672), RT (502-517) | ALGIIQAQPKSESEL | B*39:01 | Kiepiela 2007 ²⁷⁸ |
| C | Pol (781-789), Integrasa (66-74) | THLEGKIL | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Pol (850-858), Integrasa (135-143) | IQQEFGIPY | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Vpr (34-42) | FPRIWLHGL | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Vpr (48-57) | ETYGDTWTGV | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Vpr (52-62) | DTWAGVEAIR | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | gp120 (42-51) | VPVWKEATTT | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | gp120 (104-112) | MHEDIISLW | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |
| C | Nef (71-79) | RPQVPLRPM | B*39 | Pereyra 2014 ²⁷⁷ |

La búsqueda de epítomos reportados para B*39 se realizó en la Immunology database of Los Alamos HIV database (https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/ctl_search.html).

Tabla 9. Motivos de reconocimiento conocidos del grupo alélico HLA-B*39

| Alelo | Motivo de reconocimiento | Fuente |
|---------|-----------------------------|-----------|
| B*39:01 | x-[RH]-x-x-x-x-x-x-[L] | Marsh2000 |
| B*39:01 | x-[RH]-x-x-x-x-x-x-[L(VIM)] | SYFPEITHI |
| B*39:02 | x-[KQ]-x-x-x-x-x-x-[L] | Marsh2000 |
| B*39:02 | x-[KQ]-x-x-x-x-x-x-[L(FM)] | SYFPEITHI |
| B*39:09 | x-[RH(P)]-x-x-x-x-x-x-[LF] | SYFPEITHI |

La búsqueda de motivos de reconocimiento se realizó con con la Herramienta Motif Scan de la base de datos de Los Alamos HIV database (https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/motif_scan/motif_scan) usando las fuentes herramientas Marsh2000²⁵⁴ y SYFPEITHI²⁵⁵.

7.9.1 Caracterización de epítomos de Nef restringidos por los alelos HLA-B*39

Se buscaron epítomos de la proteína Nef de VIH restringidos por alelos B*39 en un conjunto de individuos mexicanos B*39⁺ infectados por VIH sin exposición a TAR previo (n=48) mediante ensayos de EliSpot IFN γ . En cada ensayo de EliSpot las PBMCs completas de cada individuo se estimularon con péptidos de 15 aminoácidos sobrelapados cada 10-11 residuos utilizando la estrategia de mezclas (o pools) de péptidos basados en matriz

con el objetivo de utilizar el menor número de células (ver sección 6.12.2 de métodos). Una segunda ronda de ensayos fue necesaria para confirmar la respuesta a péptidos individuales.

Del total de alelos *B*39* expresados por estos individuos, el 42% fue *B*39:05*, 37% fue *B*39:06*, 13% fue *B*39:02* y 8% fue *B*39:01*. El 45.8% (22/48) de los individuos *B*39*⁺ mostraron respuesta a uno o más péptidos sobrelapados de *Nef*. En la Figura 43 panel A, se pueden observar la frecuencia de las repuestas generales a cada péptido de *Nef* (es importante notar que estas respuestas no se han analizado para descartar que no estén restringidas por otros alelos no *B*39*). Se puede observar que ciertas regiones de la proteína son más inmunogénicas que otras y que ciertos péptidos presentan mayor frecuencia (Figura 43 panel A) y mayor intensidad de respuesta (promedio de las respuestas expresado en SFU/millón de células, Figura 43 panel B).

Para depurar las respuestas inmunes encontradas a sólo las restringidas por los alelos *B*39*, se realizó una búsqueda dentro de las secuencias de péptidos con respuestas inmunes positivas a epítomos ya reportados para los alelos del haplotipo HLA complementario de los sujetos. Además, utilizando la herramienta Motif Scan (sección 6.12.3 de métodos) se realizó una búsqueda con los motivos de reconocimiento ya reportados para los alelos HLA del haplotipo complementario de cada paciente. De esta manera, se encontraron 7 posibles epítomos no óptimos restringidos por los alelos *B*39:05* y *B*39:06* (los alelos más comunes del grupo alélico en la cohorte) (Figura 44). A la par de la búsqueda de respuestas inmunes en *Nef*, se realizó una búsqueda virtual de epítomos sobre toda la secuencia de *Nef* utilizando los motivos de reconocimiento descritos (Tabla 9) para los alelos *B*39* utilizando la herramienta Motif Scan (Los Alamos HIV database). Este último es una herramienta en línea que busca motivos de reconocimiento o anclaje dentro de secuencias de aminoácidos para serotipos, subtipos y supertipos HLA, por lo que es capaz de predecir epítomos potenciales sobre las secuencias de proteínas de VIH. Se utilizó como secuencia de búsqueda la secuencia HXBR2 de *Nef* (secuencia consenso del subtipo B de VIH-1). En la Figura 44 se puede observar los epítomos virtuales predichos para *Nef* restringidos por los alelos *B*39* de los cuales se conoce su motivo de reconocimiento.

En la yuxtaposición (Figura 44) de los epítomos predichos por Motif Scan y los epítomos no óptimos encontrados experimentalmente por EliSpot IFN γ se pueden obtener conclusiones interesantes. Primero es que los epítomos predichos y encontrados experimentalmente se agrupan en regiones a lo largo de la secuencia de *Nef*. Segundo, algunos epítomos encontrados experimentalmente por EliSpot se empalman con los epítomos virtuales (restringidos por *B*39:01/09*) lo que podría predecir los motivos de reconocimiento de los alelos *B*39:05* y *B*39:06*. Lo que no es raro, porque se espera que las especificidades de subtipos relacionados (mismo grupo alélico) puedan compartirse sobre todo si se toma en cuenta que el subtipo *B*39:01* (alelo con motivo de

reconocimiento conocido) y *B*3905/06* difieren sólo en 1 (D74Y) y 2 (L95W y S97T) aminoácidos en el sitio de unión a péptido, respectivamente.

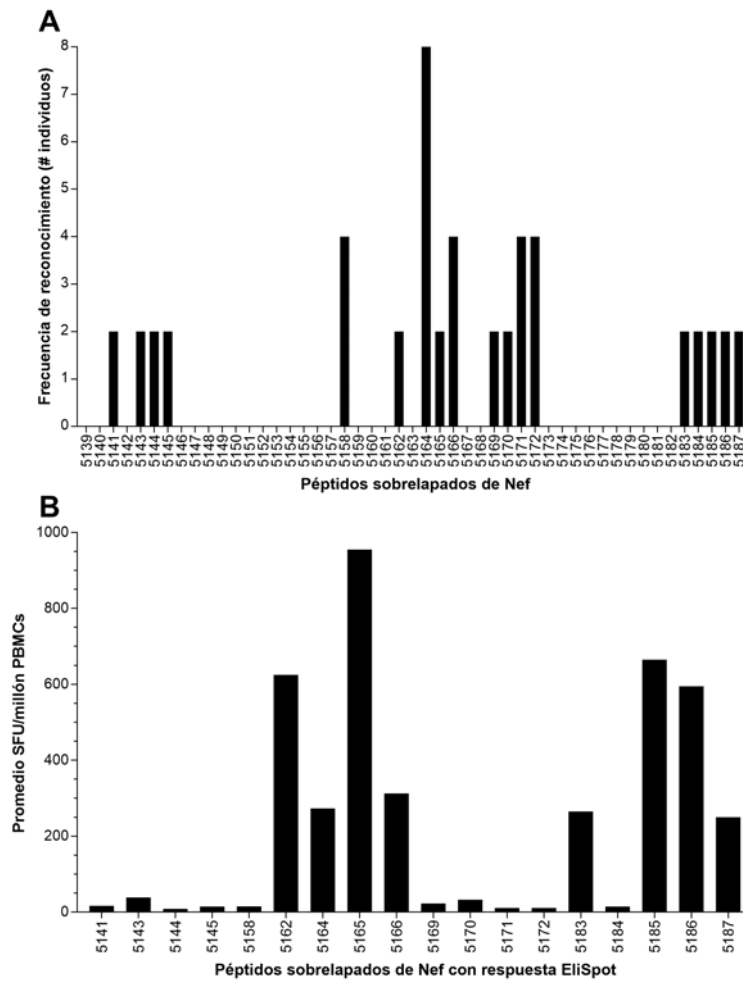


Figura 43. Respuestas de EliSpot a péptidos sobrelapados de Nef

En el panel (A) se muestra las respuestas de células T a lo largo de todos los péptidos sobrelapados de *Nef* (péptidos 5139-5187) de 48 individuos *B*39+*. En el panel (B) se muestra el promedio de SFU/millón de PBMCs de los péptidos que tuvieron respuesta en el ensayo de EliSpot IFN γ . SFU = unidades formadoras de puntos o spots.

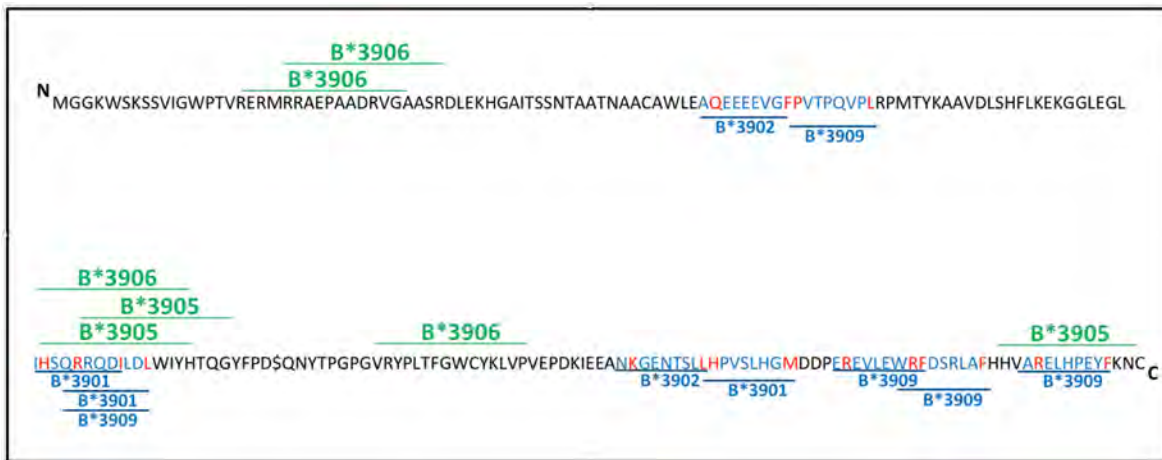


Figura 44. Mapa de epítomos de Nef: posibles epítomos no óptimos restringidos por *B*39:05/06* (EliSpot) y epítomos virtuales para *B*39:01/02/09* (Motif Scan)

Se muestran la secuencia de los 204 aminoácidos de la proteína Nef. En la parte inferior de la secuencia se observan los epítomos virtuales predichos por los motivos de reconocimiento para *B*39:01/02/09* (denotados en azul) utilizando Motif Scan (https://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/motif_scan/motif_scan). Los aminoácidos en azul forman parte de los epítomos predichos y los aminoácidos denotados en rojo corresponden a los aminoácidos de anclaje (posición 2 y 9). En la parte superior de la secuencia de aminoácidos se observan los posibles epítomos no óptimos encontrados mediante ensayos de EliSpot IFN γ restringidos por los alelos *B*39:05/06* (en verde).

7.9.2 Mapeo de respuestas inmunes de todo el proteoma de VIH (matriz m88-35-4)

Aunque cada vez hay más evidencias de la importancia de los linfocitos T citotóxicos (CTLs) específicos de VIH en el control de la replicación in vivo, sólo existen escasos datos de las respuestas de CTLs para las poblaciones mestizas que exhiben una mezcla de haplotipos HLA amerindios, europeos y africanos como la cohorte mesoamericana presentada en este trabajo. Existe la precedente evidencia de que los CTLs son capaces de ejercer presión selectiva al reconocer epítomos a lo largo de todo el proteoma de VIH, esto se comprobado en estudios poblacionales en donde se encontraron respuestas de EliSpot a todo el proteoma de VIH en distintas poblaciones con diferentes contextos inmunogenéticos²⁵² (por ejemplo, al mostrar distintas distribuciones HLA de clase I). Esto último se ha realizado con el mapeo de epítomos de linfocitos T de los epítomos de VIH que requiere de un método complejo para evaluar cientos de péptidos con una cantidad limitada de muestra del donante^{210,252,280}.

Es por este motivo que se realizó una prueba de concepto para evaluar la amplitud de las repuestas de CTLs a todo el proteoma de VIH e identificar regiones en las secuencias de proteínas del subtipo B de VIH-1 que son frecuentemente reconocidas por individuos mestizos mexicanos, y que pueden ser relevantes para el diseño y prueba de vacunas. La estrategia de ensayos de EliSpot IFN γ utilizando mezclas (o pools) de péptidos basadas en matrices de 3 dimensiones fue usada para utilizar el menor número de PBMCs de los individuos. Para probar los 769 péptidos de 15 residuos superpuestos (en 10-11 aminoácidos) que cubren todo el proteoma de VIH, se

seleccionó una matriz que incluye a 88 pools (mezclas) con 35 péptidos en cada uno y en donde cada péptido estaba representado 4 veces en los pools (m88-35-4). El software Deconvolute This! ^{213,214} fue utilizado para optimizar la configuración de la matriz de péptidos, generar la lista de péptidos en cada pool y para determinar los ensayos de segunda ronda basado en los resultados del primer ensayo.

Los pools de péptidos se probaron en 99 individuos VIH⁺ mexicanos, que incluyeron a 54 individuos vírgenes a TAR (medianas: CVp, 4.72 log₁₀ copias RNA/ml; conteo CD4, 429 céls./μl) y 45 individuos bajo TAR (medianas: CVp, 1.6 [indetectable] log₁₀ copias RNA/ml; conteo CD4, 475 céls./μl). Desafortunadamente, debido a la disponibilidad de muestra y al número de PBMCs obtenidas, sólo para 34 individuos se pudieron identificar a nivel de péptido individual (segunda ronda de ensayos EliSpot) las respuestas de CTLs específicas (mediana de respuestas CTLs: 38 [IQR 17-58], Figura 47 panel A). Para el resto de los individuos se muestran los péptidos probables obtenidos con Deconvolute This! como resultado a las respuestas positivas de la primera ronda de ensayos donde se probaron los pool de péptidos (Figura 47 panel B, en donde se muestran las respuestas probables de los 99 individuos). La detección de las respuestas de CTLs identificó una amplitud sin precedente en la distribución de péptidos reconocidos. En general, el 83% (639/769) de los péptidos fueron reconocidos por algún sujeto, y las proteínas virales Gag, Vif y Nef fueron las proteínas más reconocidas con un 97%, 93% y 93% (respectivamente) de sus péptidos probables reconocidos por algún individuo, mientras que las subunidades menos reconocidas fueron gp120 y gp41 con 69% y 72%, respectivamente (Figura 47 panel B).

La noción de que los sujetos bajo tratamiento antirretroviral muestran respuestas de CTLs menos amplias ^{210,252} se confirmó al encontrar que el número de respuestas probables entre los individuos vírgenes a tratamiento es significativamente mayor al compararlos con aquellos bajo TAR (mediana [IQR]: vírgenes a TAR, 75 [31.5-130.5]; con TAR [2.7-19]; p<0.0001; Figura 45), y también se observó un cambio en la amplitud de las respuestas a ciertas proteínas sobre otras en los individuos bajo TAR (por ejemplo, menor reconocimiento de los péptidos de Gag, Figura 47 panel C). La previa evidencia de que la actividad de las CTLs está disminuida durante el TAR efectivo dando como resultado una replicación viral muy baja o indetectable sugiere que las respuestas de CTLs y la CVp podrían correlacionar positivamente. Sin embargo, se han publicado varios estudios que proporcionan datos contradictorios sobre la correlación entre la actividad de CTLs y la CVp o los conteos de CD4 ^{210,252,280-289}. Por tanto, aprovechamos la gran cantidad de individuos vírgenes a TAR que cuentan con una amplia distribución de CVp y recuentos de CD4 para reevaluar estas correlaciones. Encontramos una correlación negativa importante y significativa entre la CVp y la amplitud de las respuestas (número de respuestas probables) a todas las proteínas de VIH (rho de Spearman = -0.5852, p = 0.0001, Figura 46 panel superior). Esta correlación negativa con la CVp se mantiene para casi todas las proteínas de VIH (excepto proteasa e integrasa) y es mucho más

fuerte con las proteínas de Gag (p17, p24 y p15) y con las proteínas accesorias y Nef (rho de Spearman ≈ -0.5 , en todos los casos $p < 0.05$, Figura 46 tabla inferior). Sin embargo, no encontramos ninguna correlación significativa entre el conteo de CD4 y la amplitud de la respuesta.

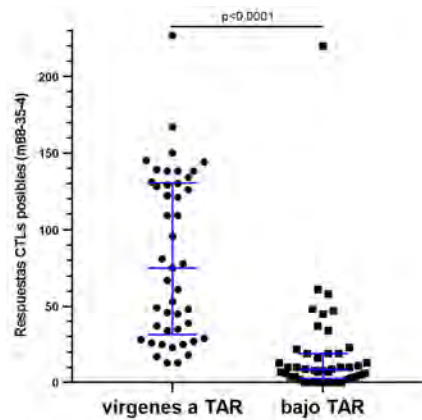
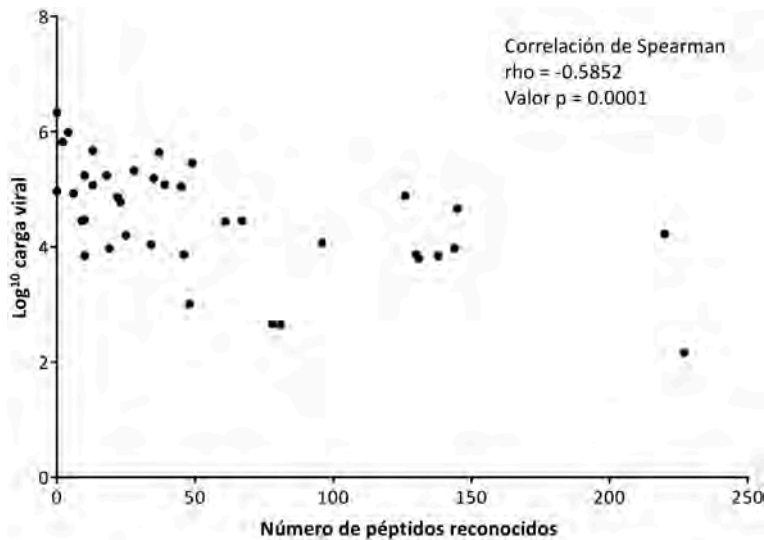


Figura 45. Posibles respuestas de CTLs ante la matriz de péptidos m88-35-4

Se muestra la comparación de respuestas posibles entre los individuos vírgenes a TAR y aquellos con TAR dado las respuestas positivas a los pools o mezclas de péptidos de la matriz m88-35-4. La prueba U de Mann-Whitney se utilizó para evaluar la diferencia.



| Correlaciones | Carga viral en plasma | | Conteo de CD4 | |
|-------------------------|-----------------------|---------|-----------------|---------|
| | Rho de Spearman | Valor p | Rho de Spearman | Valor p |
| Proteína VIH | -0.5852 | 0.0001 | 0.0534 | ns |
| Todo VIH | -0.5852 | 0.0001 | 0.0534 | ns |
| p17 | -0.4905 | 0.0008 | 0.09843 | ns |
| p24 | -0.4594 | 0.0019 | 0.2121 | ns |
| p15 | -0.3328 | 0.0292 | -0.03963 | ns |
| Todo Gag | -0.492 | 0.0008 | 0.2035 | ns |
| Proteasa | -0.1891 | ns | 0.07966 | ns |
| RT | -0.3621 | 0.017 | 0.03371 | ns |
| Integrasa | -0.2675 | ns | -0.075 | ns |
| Todo Pol | -0.3491 | 0.0218 | 0.003683 | ns |
| Prot accesorias sin Nef | -0.4999 | 0.0006 | 0.1598 | ns |
| Env | -0.3888 | 0.01 | 0.2044 | ns |
| Nef | -0.4662 | 0.0016 | 0.1834 | ns |
| Prot accesorias con Nef | -0.5084 | 0.0005 | 0.1693 | ns |

Figura 46. Las respuestas inmunes de CTLs correlacionan con la CVp en individuos sin TAR

En el panel superior se muestra la correlación entre la amplitud de las respuestas de CTLs (número de péptidos probables reconocidos) de todo el proteoma de VIH y la CVp. Además, en la tabla inferior se muestran las correlaciones con el número de péptidos reconocidos para cada proteína de VIH y la CVp o el conteo de CD4. Las correlaciones se evaluaron con la prueba no paramétrica de rangos de Spearman. ns = no significativo.

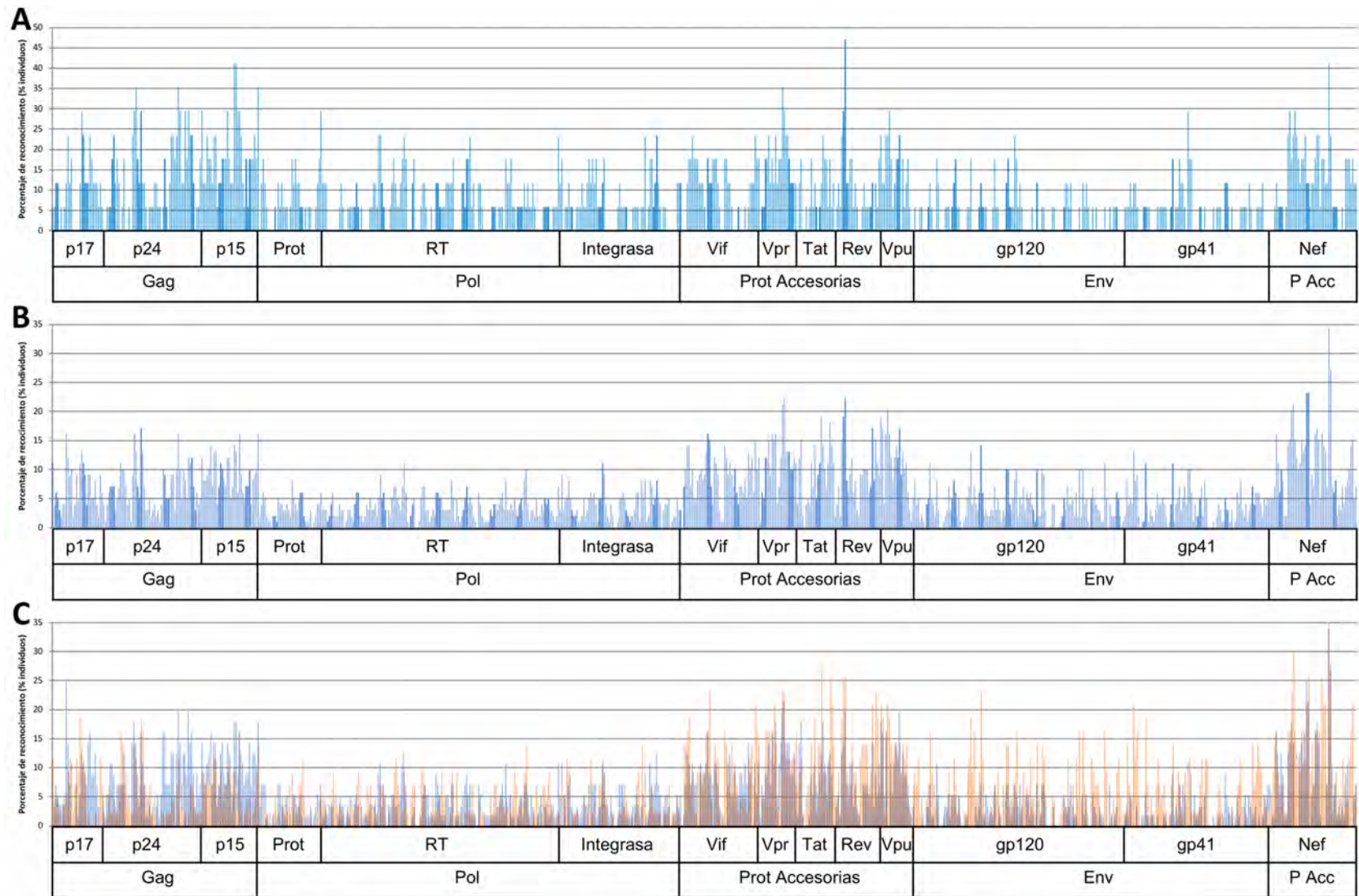


Figura 47. Las respuestas de CTLs se distribuyen sobre todo el proteoma de VIH y se agrupan en regiones inmunodominantes

Se muestran las frecuencias de las respuestas totales de linfocitos T CD8 citotóxicos específicos (CTLs) de 99 individuos mexicanos VIH⁺ (54 vírgenes a TAR y 45 con TAR) que se obtuvieron con pools de péptidos sobrelapados (769 péptidos) basados en la matriz m88-35-4 con ensayos EliSpot IFN γ . En el panel (A) se muestran las frecuencias de reconocimiento de los 34 individuos en los que se pudieron probar los péptidos individuales. En el panel (B) se muestran las posibles respuestas (obtenidos con el software Deconvolute This!) de los 99 individuos. En el panel (C) las respuestas se estratifican para los sujetos vírgenes a TAR (n=54, denotados en azul) y aquellos con TAR (n=45, denotados en rojo). Cada línea representa la frecuencia de reconocimiento (% de individuos) de péptidos individuales. En la parte inferior de la gráfica se denota las proteínas de VIH que abarcan los péptidos probados.

8. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En el presente estudio, hasta donde sabemos, el más grande y completo de su tipo realizado hasta la fecha en una población mestiza de Latinoamérica que presenta una gran, única y compleja mezcla inmunogenética, caracterizamos las distribuciones de frecuencias alélicas HLA, las estructuras de haplotipos e identificamos asociaciones HLA-VIH tanto canónicas como nuevas entre los alelos HLA de clase I y el control del VIH, de igual manera evaluamos las complejidades aditivas HLA y el impacto de las variantes *B*35*, además, caracterizamos los epítomos restringidos por los alelos *B*39* en una proteína viral y finalmente realizamos una prueba de concepto para detectar respuestas de CTLs sobre todo el proteoma de VIH utilizando la estrategia de pools de péptidos basados en matrices complejas.

Para identificar las asociaciones HLA-VIH, implementamos un nuevo sistema de puntuación (score HLA-VIH) basado en cinco parámetros parcialmente interrelacionados, un enfoque que permitió una clasificación más matizada de la consistencia de las asociaciones HLA-VIH observadas. De hecho, a pesar de la naturaleza transversal de nuestro estudio y el hecho de que investigamos estas asociaciones durante la infección crónica por VIH, detectamos numerosas asociaciones canónicas con el control del VIH (por ejemplo, en el análisis univariable de MEX/CAM: *B*57:01/03*, *B*27:05* y *B*14:02*; en MEX: *B*14:02*; y en CAM: *B*57:02*; obtuvieron el score HLA-VIH de protección más alto [+5]), a pesar de que las frecuencias de algunos de estos alelos HLA son significativamente más bajas en la cohorte MEX/CAM que en otras poblaciones del mundo. El sistema de puntaje (score HLA-HIV) basado en 5 parámetros también nos permitió detectar alelos de asociados previamente a la protección que no se asociaron con la CVp o el conteo de CD4 (parámetros canónicos para las asociaciones HLA-VIH), incluyendo a *B*42:01*^{216,223,226}, *B*57:02*^{151,223} y *B*81:01*^{121,216,223,226}; además nos permitió distinguir efectos fuertes de asociación de los más débiles (por ejemplo, todas las asociaciones canónicas de protección, incluyendo a *B*57:01*, *B*57:03* y *B*27:05* se asociaron significativamente con los 5 parámetros clínicos). La ratificación de numerosas asociaciones HLA previamente descritas en otras poblaciones infectadas por el subtipo B de VIH-1 (por ejemplo, *B*57:01*^{117,134,135,187,195,222,228}, *B*57:03*²²², *B*27:05*^{117,134,187,195,228}, *B*44:03*²²⁷, *B*58:01*²²⁷, *B*14:02*^{187,222}, *A*25:01*^{134,195}, *B*35:01*^{187,227}, *B*35:02*^{105,117,134,195,228}, entre otras asociaciones reportadas previamente) respalda la precisión de nuestro análisis y aumenta la confianza en las nuevas asociaciones HLA-VIH encontradas. Entre estas últimas, los alelos HLA expresados frecuentemente en poblaciones amerindias se destacaron de manera prominente, particularmente entre los alelos de riesgo. Estos incluyen a *A*03:01*, *B*15:39* y *B*39:02* (identificados como alelos de protección) y *A*01:02*, *A*02:06*, *A*24:03*,

*A*68:03/05, B*15:30, B*35:12/14, B*39:01/06, B*39:05~C*07:02 y B*40:01~C*03:04* (identificados como alelos de riesgo).

Notablemente, el análisis univariable para identificar alelos individuales asociados con los 5 parámetros clínicos se realizó dos veces con diferentes pruebas estadísticas: con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para hacer nuestro estudio comparable a los estudios clásico de asociación HLA y mediante regresiones lineales [Modelos Lineales Generalizados o GLM] para cuantificar la magnitud de los efectos HLA. Los scores HLA-HIV derivados de los análisis de GLM fueron altamente concordantes con los obtenidos con la prueba U de Mann-Whitney (Spearman rho >0.9331 en la cohorte combinada y en las cohortes individuales, en todos los casos p<0.0001) lo que da veracidad de los resultados obtenidos.

Es importante destacar que la mayoría de los alelos HLA protectores y de riesgo siguieron asociándose significativamente después de tener en cuenta posibles factores de confusión, incluidos la edad, el género, la ubicación geográfica de reclutamiento, los alelos HLA con efectos significativos para cada parámetro clínico de VIH (primer modelo de regresión lineal [GLM]) y el desequilibrio de ligamiento HLA (segundo modelo de regresión lineal [GLM]), lo que da más confianza a los hallazgos encontrados en el presente estudio.

Es de destacar que muchos de los nuevos alelos HLA “típicos” amerindios identificados como de riesgo en el presente estudio son relativamente comunes en Mesoamérica (México y Centroamérica en este estudio). De hecho, 35.2% (1133/3213) de los individuos en la cohorte MEX/CAM, 40.2% (676/1679) en la cohorte MEX y 29.7% (457/1534) en la cohorte CAM expresaron al menos un alelo HLA de riesgo. La prevalencia de los alelos HLA de riesgo fue particularmente alta en Guatemala (48%), El Salvador (42%) y los estados del sureste de México (Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán [48% en conjunto]). Estas observaciones resaltan la importancia de implementar y mantener programas de prevención, diagnóstico y tratamiento antirretroviral temprano localmente apropiados, particularmente en regiones representadas por poblaciones con alta mezcla amerindia.

Interesantemente, tanto subtipos HLA protectores como de riesgo se identificaron dentro del grupo de alelos amerindios, frecuentes y genéticamente diversos *HLA-B*39*, incluyendo a *B*39:02* (alelo de protección) y *B*39:05, B*39:01 y B*39:06* (alelos de riesgo). El control del VIH por *B*39:02* podrían explicarse por la presencia de glutamina en la posición 63 y serina en posición 67 (posiciones de aminoácidos *HLA-B* previamente asociadas con el control del VIH en estudios de asociación de genoma completo^{187,290}) dentro del sitio de unión a péptido HLA, que distingue a este alelo de otros subtipos *HLA-B*39*. Está bien establecido que una diferencia de sólo uno o dos aminoácidos puede influir en el estado de riesgo o protección entre subtipos HLA estrechamente relacionados (por ejemplo, *B*42:01 y B*42:02; B*57:03 y B*57:02; B*35:01 y B*35:02/03; B*44:02 y B*44:03,*

descritos en la referencias^{117,165,278,291-297}), sugiriendo que un mecanismo similar podría ser la base de las diferencias entre los subtipos *HLA-B*39*. Es importante enfatizar que el subtipo amerindio *B*39:02* obtuvo un score HLA-VIH de protección de +2 (%CD4 y CD4/CD8) en análisis univariados (con U de Mann-Whitney y con regresión lineal [GLM]) y score de +3 (CVp, %CD4 y CD4/CD8) en ambos análisis multivariados en la cohorte combinada (MEX/CAM) y score +2 (CVp y CD4/CD8) en análisis univariado y score de +3 (CVp, %CD4 y CD4/CD8) en análisis multivariado en los análisis individuales de la cohorte MEX (aunque no se identificó como significativamente protector en la cohorte CAM, posiblemente como resultado de una potencia significativamente menor a causa de su frecuencia más baja en CAM [FA=0.009] en comparación con MEX [FA=0.02]; p=0.0004, q<0.001 [ver Figura 32]). Además, la protección asociada con *B*39:02* no era atribuible a la coexpresión de otros alelos *HLA-B* de protección; de hecho, algunos individuos que expresan *B*39:02* también coexpresaron alelos de riesgo, incluidos *B*35:01/02/03/12* y *B*39:06*, lo que sugiere que los efectos protectores asociados con *B*39:02* pueden superar los riesgos asociados con los alelos HLA deletéreos (o de riesgo). De acuerdo con múltiples líneas de evidencia que identifican a las respuestas en Gag (particularmente en p24) como determinantes del control de VIH^{278,285,298-300}, identificamos previamente (en la cohorte MEX) dos polimorfismos en Gag (en los codones 315 y 319, ambos en p24)²⁴⁴ y tres en Pol (codones 70 y 79 in proteasa, y 322 en transcriptasa reversa)²⁴⁴ asociados significativamente a *B*39:02*, sugiriendo una reproducible y fuerte selección de estas regiones por respuestas de células T restringidas por *B*39:02* como posibles determinantes del control del VIH mediado por *B*39:02*, donde tales efectos permanecen detectables en la infección crónica por VIH-1. Curiosamente, *B*39:02* se ha asociado previamente con una rara enfermedad autoinmune llamada arteritis de Takayasu en poblaciones japonesas y mexicanas³⁰¹⁻³⁰⁶, y también con espondiloartropatías en Japón³⁰⁷, observaciones que reflejan los vínculos establecidos entre los alelos HLA asociados canónicamente con la protección contra la progresión a la enfermedad por VIH y las enfermedades autoinmunes (por ejemplo, *B*27:05*, descrito en las referencias³⁰⁸⁻³¹⁰).

En contraste, el subtipo amerindio y altamente frecuente *B*39:05* (el tercer alelo *HLA-B* más frecuente en MEX/CAM [FA=0.057]) que se asoció consistentemente entre los alelos de más riesgo (score -5 en MEX/CAM, -4 en MEX y -4 en CAM) incluso después de la corrección de análisis multivariado (primer modelo de regresión lineal [GLM]: score -2 [CD4 y %CD4] en MEX/CAM, score -3 [CD4, Z-score y %CD4] en MEX y score -1 [CD4] en CAM) (aunque es importante tener en cuenta que este subtipo está en fuerte LD con *C*07:02* [en el segundo modelo GLM no se pudo identificar el alelo que guía la asociación]). Notablemente, *B*39:05* no se identificó por montar respuestas inmunes significativas en p24 de Gag, sino más bien en Pol²⁴⁴ (codones 37, 134 y 296). De forma similar, no se identificaron codones en Gag significativamente asociados con presión inmune por los

alelos amerindios *B*39:01*, *B*39:06* y *B*35:14*²⁴⁴, los cuales también se identificaron como alelos de riesgo en el análisis univariable de la cohorte combinada MEX/CAM.

El subtipo amerindio y altamente frecuente *B*35:12* (el sexto alelo *HLA-B* más frecuente en MEX/CAM [FA=0.042]) también se asoció de forma consistente al riesgo tanto en la cohorte combinada como en las individuales en los análisis univariados (score -5 en MEX/CAM, -3 [CD4, %CD4 y CD4/CD8] en MEX y -3 [CVp, CD4 y Z-score] en CAM) y multivariados (score -1 [CD4] en MEX/CAM, -1 [CD4] en MEX y -1 [Z-score] en CAM). De hecho, en virtud de su similitud con otros miembros del grupo *B*35-PX*, notablemente *B*35:02/03*, en las posiciones 114 y 116 del sitio de unión del péptido de la molécula *HLA-B*³¹¹, *B*35:12* representa un nuevo miembro putativo del grupo *B*35-Px* asociado al riesgo de progresión a la enfermedad por VIH¹¹⁷.

Varias limitaciones y consideraciones merecen mencionarse. Primero, es importante tener en cuenta la naturaleza interrelacionada de los cinco parámetros clínicos de VIH evaluados (por ejemplo, en la cohorte MEX/CAM, la rho de Spearman entre CVp y el conteo de CD4, %CD4 y la razón CD4/CD8 fue de -0.54 en todos los casos; rho de Spearman entre CVp y Z-score fue -0.87; además, rho de Spearman entre CD4 y Z-score, %CD4 y la razón CD4/CD8 fue >0.79 en todos los casos). Sin embargo, a pesar de estas correlaciones relativamente fuertes, los parámetros relacionados de carga viral (CVp) y el conteo de CD4 han sido establecidos como predictores independientes de la progresión a la enfermedad por VIH (por ejemplo, en las referencias^{223,225}). Como tal, la inclusión de las cinco variables en nuestro sistema de puntaje (score HLA-VIH) nos permitió aumentar la sensibilidad para detectar tanto las asociaciones HLA descritas anteriormente (por ejemplo, en el análisis univariable de MEX/CAM: *B*57:02*^{151,223} [score +2, %CD4 y CD4/CD8], *B*44:03*^{216,223,227} [score +1, CD4/CD8] y *C*08:01*²²⁶ [score +1, %CD4]; y en el análisis multivariable de MEX/CAM: *B*42:01*^{216,223,226} [score +2, %CD4 y CD4/CD8], *B*57:02*^{151,223} [score +2, %CD4 y CD4/CD8] y *C*08:01*²²⁶ [score +1, CD4/CD8]), como las nuevas asociaciones HLA-VIH descritas en el presente tesis (por ejemplo, en el análisis univariable de MEX/CAM: *B*39:02* [score +2, %CD4 y CD4/CD8], *A*68:05* [score -2, %CD4 y CD4/CD8], *B*35:14* [score -1, Z-score] y *B*40:01* [score -2, %CD4 y CD4/CD8]). De igual manera, nos permitió identificar asociaciones con alelos HLA o infrecuentes (por ejemplo, en el análisis univariable de MEX/CAM: *B*40:06*²²⁷ [n=8, score +2], *B*81:01*^{121,216,223,226} [n=16, score +2], *C*14:03*²²⁷ [n=6, score +1]; análisis multivariable de MEX/CAM: *B*57:02*^{151,223} [n=7, score +2] y *B*81:01*^{121,216,223,226} [n=16, score -1]). Además, la observación de que las asociaciones de protección canónicas, incluyendo *B*57:01*, *B*57:03* y *B*27:05* lograron la puntuación de protección más alta (score +5) aumenta la confianza en nuestra identificación de *B*39:05* y *B*35:12* como nuevos alelos de riesgo, los cuales obtuvieron los puntajes más bajos (score -5). Además, el hecho de que algunos alelos HLA mostraron asociaciones con diferentes parámetros clínicos de VIH plantea la intrigante

posibilidad de que ciertos subtipos HLA influyen en la progresión a la enfermedad por VIH a través de diferentes mecanismos (aunque no puede ser descartado el poder insuficiente para detectar asociaciones relativamente débiles combinado con el uso de un umbral de significancia predefinido).

Como en todos los estudios de asociación HLA, el fuerte desequilibrio de ligamiento, particularmente entre los *loci HLA-B* y *HLA-C* que se encuentran situados muy cerca dentro del grupo de genes del bloque beta del Complejo Principal de Histocompatibilidad³¹²⁻³¹⁴ hace que sea difícil separar en algunos casos los efectos de los alelos HLA individuales. Las asociaciones entre ciertos alelos *HLA-C* y los parámetros clínicos de VIH pudieron ser parcial o totalmente atribuibles al desequilibrio de ligamiento con alelos *HLA-B* (por ejemplo, *B*27:05* con *C*02:02* y *B*35:12* con *C*04:01*). Además, para tres combinaciones o haplotipos *HLA-B~C* (*B*14:02~C*08:02*, *B*39:05~C*07:02* y *B*40:01~C*03:04*), el alelo responsable para la asociación observada no pudo ser resuelto debido a su fuerte desequilibrio de ligamiento. Del mismo modo, no podemos descartar la posibilidad de efectos aditivos y/o sinérgicos entre los alelos HLA (descritos para algunos alelos en las referencias^{223,226}).

Otra limitante que debe considerarse en este estudio es que el análisis transversal es mucho menos sensible que un estudio longitudinal de tiempo de progresión a SIDA, ya que no sólo fluctúan las mediciones de los parámetros clínicos de VIH, sino que también se sabe que los individuos con niveles bajos de CVp y altos conteos de CD4 pueden progresar a SIDA de manera impredecible^{105,315}. Además, si, como se presume por otros (y se ha encontrado evidencias en el presente trabajo, ver más adelante en la discusión), los alelos HLA tienen un efecto aditivo, a menos que un alelo HLA ejerza un efecto dominante, es probable que quede oculto por los otros alelos HLA de clase I del individuo. Además, estos datos provienen de una cohorte infectada crónicamente, y es posible que algunos efectos impulsados por HLA puedan detectarse más fácilmente durante la fase aguda de la enfermedad. Por estas razones, no es sorprendente que incluso en una cohorte de más de 3 mil individuos, sólo una fracción de los alelos HLA expresados tenga un efecto sobre el control del VIH que pueda detectarse. Existen otros factores potencialmente confusores, que incluyen a los receptores KIR⁹¹ y los polimorfismos de correceptores³¹⁶. Sin embargo, el hecho de que es posible identificar asociaciones altamente significativas con ciertos alelos y haplotipos HLA, a pesar de todos los factores de confusión, indicaría que estos tienen una gran influencia sobre el control del VIH.

Finalmente, el riesgo de encontrar asociaciones falsas es una preocupación constante en los estudios de asociación HLA, particularmente cuando se informan asociaciones nuevas con alelos relativamente raros (por ejemplo, *B*15:39* [protector] y *A*01:02* [riesgo], ambos observados en sólo 8 individuos). La validación de estas nuevas asociaciones en otras cohortes, junto con la elucidación de un posible mecanismo, están por lo tanto justificadas y aseguradas en el futuro. En particular, la evaluación de las respuestas de linfocitos T CD8+ citotóxicos

(*CTLs*) específicas de VIH en individuos latinoamericanos que expresen alelos HLA protectores o de riesgo debería proporcionar información sustancial del mecanismo que explique las asociaciones HLA encontradas en el presente estudio. A pesar de las limitaciones discutidas previamente, nuestro estudio confirma que algunas asociaciones de alelos HLA (por ejemplo, *B*27:05* y *B*57:01*) trascienden los límites de la raza y el subtipo de VIH, mientras que otras asociaciones probablemente sean particulares o específicas del contexto inmunogenético único de la población de estudio.

Los análisis para explorar las complejidades aditivas HLA descritas previamente, en particular la del efecto aditivo de los alelos HLA de clase I, sugieren que los alelos HLA individuales asociados a la protección o al riesgo ejercen una fuerte influencia sobre los parámetros clínicos independientemente asociados con la progresión a la enfermedad por VIH, incluidos los alelos canónicos así como los nuevos alelos de protección y de riesgo, no dominan la respuesta inmune sino, más bien, sugieren que la contribución de los alelos HLA individuales es aditiva. Los efectos significativos, aunque débiles, dependientes de la frecuencia HLA en esta cohorte pudieron detectarse considerando las frecuencias alélicas de los alelos HLA protectores/riesgo (de igual manera usando todos los alelos expresados en la cohorte) y considerando la frecuencia global de cada individuo de la cohorte MEX/CAM. Al evaluar sólo los conteos de CD4, observamos una ventaja de los heterocigotos HLA al compararlos con los homocigotos en uno y dos *loci*. El hecho de que no detectemos ningún efecto de la homocigosis en el control inmune del VIH (por ejemplo, la CVp o el Z-score) no debe tomarse como evidencia en contra de esta hipótesis. El estudio original que identificó una ventaja para los alelos en heterocigosis observó asociaciones entre la heterocigosis en los *loci* HLA de clase I y la progresión lenta hacia el SIDA y la muerte relacionada al SIDA¹⁰⁵. Este tipo de análisis longitudinal es más sensible que el estudio transversal de los marcadores sustitutos de la progresión de la enfermedad realizado en el presente trabajo doctoral. Sin embargo, estos datos sugieren que, al menos en esta cohorte de estudio crónicamente infectada, la ventaja de los heterocigotos en general es menos significativa que el efecto de los alelos HLA individuales de protección y de riesgo. En conjunto, estos datos confirman que en esta cohorte de México y Centroamérica infectada por el subtipo B del VIH-1, el *locus HLA-B* tiene la mayor influencia en el control del VIH y que este efecto se extiende más allá de las asociaciones canónicas previamente descritas, ya que pudimos identificar nuevas asociaciones HLA de protección y de riesgo con alelos amerindios que raramente se expresan en cohortes caucásicas. Sin embargo, aunque los alelos HLA individuales tienen un fuerte efecto sobre el control de la enfermedad, también encontramos evidencia de que el estado de la enfermedad a nivel individual es probablemente el resultado del haplotipo HLA completo de cada individuo en lugar de un efecto dominante de un único alelo HLA protector o de riesgo.

Hemos confirmado la asociación del grupo *B*35-PX* (descritos y putativos) con la progresión a la enfermedad por VIH al asociarse significativamente tanto con la CVp como el conteo de CD4. Describimos un nuevo miembro putativo del grupo *PX*, *B*35:12* que se ha asociado independientemente con la CVp y el conteo de CD4 (y otros parámetros clínicos como se mostró antes en el presente trabajo [ver Figura 27]). También encontramos que el grupo *B*35-PY* (descritos y putativos) se asocia de manera negativa con los parámetros clínicos (en particular el alelo altamente frecuente, *B*35:01*). Por lo que concluimos que la previa observación de que el efecto negativo del grupo *B*35* se debe únicamente a los alelos *PX* no está soportada por estos análisis en la presente cohorte mestiza. Otros factores, como la especificidad fina de los péptidos de VIH presentados por las moléculas *B*35*, pueden jugar un papel, afectando la naturaleza de la respuesta de los linfocitos T citotóxicos o quizás afectan otros aspectos de la respuesta inmune vía la unión diferencial a receptores de otras células inmunes como LILR-B2 en las células dendríticas²⁷⁰. De igual manera, la selección y la fijación de mutantes de escape HLA a nivel poblacional dirigidas por la alta frecuencia HLA y bajo costos en capacidad replicativa viral (“fitness viral”) podrían explicar los efectos negativos de alelos HLA específicos de la población²⁷¹. En conjunto, observamos diferencias sustanciales en los parámetros clínicos asociados a la progresión a la enfermedad por VIH asociados con pequeñas diferencias entre los alelos *B*35*. La definición de los mecanismos subyacentes a estas diferencias facilitará una mejor comprensión de los mecanismos del control inmune del VIH.

Desde la primera descripción de los CTLs específicos del VIH, numerosos estudios han respaldado el importante papel de este brazo del sistema inmune celular, y un número considerable de esfuerzos de desarrollo de vacunas se dirigen al diseño de estrategias de vacunación basadas en CTLs³¹⁷⁻³²⁰. Las diversidades de secuencias virales globales y locales no solamente representan un obstáculo importante para el desarrollo de vacunas, sino que también es necesario tener en cuenta la inmunogenética de los hospederos, especialmente la distribución de alelos HLA de clase I, cuando se diseñan vacunas candidatas para provocar respuestas fuertes de CTLs. Con el fin de identificar las especificidades antigénicas de los subtipos del grupo alélico poco descrito antes y frecuentemente expresado *B*39* en la presente cohorte, hemos descrito 7 posibles epítomos no óptimos de la proteína viral *Nef* restringidos por los subtipos *B*39:05* y *B*39:06* (los más frecuentes del grupo alélico en la presente cohorte) cuyos motivos de reconocimiento se pudieron dilucidar gracias a la predicción de epítomos virtuales predichos para otros subtipos de *B*39*. Además, se realizó una prueba de concepto para evaluar la amplitud de las respuestas de CTLs a todo el proteoma de VIH e identificar regiones en las secuencias de proteínas del subtipo B de VIH-1 que son frecuentemente reconocidas por individuos mestizos mexicanos, y que pueden ser relevantes para el diseño de vacunas. Aunque se utilizó una estrategia optimizada para utilizar el menor número de PBMCs (ensayos de EliSpot IFN γ utilizando pools de péptidos basados en la matriz m88-35-133

4), sólo en el 34% (34/99 individuos) de los individuos a los que se realizó los ensayos se pudieron confirmar la respuesta a péptidos individuales. Sin embargo, al utilizar los péptidos con probable reconocimiento obtenidos con el software de deconvolución de respuestas, la amplitud de las respuestas y las frecuencias a cada péptido son similares a las obtenidas cuando se pudieron obtener respuestas a péptidos individuales (panel A y B de la Figura 47). La detección de las respuestas de CTLs identificó una amplitud sin precedente en la distribución de péptidos reconocidos. En general, el 83% (639/769) de los péptidos se identificaron con probable reconocimiento por algún sujeto, y las proteínas virales Gag, Vif y Nef fueron las proteínas más reconocidas con un 97%, 93% y 93% (respectivamente) de sus péptidos probables reconocidos por algún individuo y además fueron las proteínas más frecuentemente reconocidas, mientras que las subunidades menos reconocidas fueron gp120 y gp41 con 69% y 72%, respectivamente (Figura 47 panel B). Encontramos una correlación negativa significativa entre la CVp y la amplitud de las respuestas CTLs que se mantiene en la mayoría de las proteínas individuales de VIH, lo que apoya la hipótesis de que a mayor número de respuesta de CTLs mejor el control de la replicación viral. A su vez, encontramos que la amplitud de las respuestas de CTLs esta reducida en los individuos bajo TAR (CVp indetectable en todos los casos), lo que sugiere que la carga antigénica es la fuerza impulsora de la respuesta inmune contra el VIH.

En conclusión, los resultados de nuestro estudio son relevantes para la última búsqueda de vacunas efectivas contra el VIH, ya sean profilácticas o terapéuticas, globales o adaptadas geográficamente. En particular, la caracterización detallada (y monitorización continua¹⁰⁷) de las asociaciones HLA con los parámetros clínicos de VIH en poblaciones humanas étnicamente diversas afectadas por la epidemia de VIH puede ayudar a informar el diseño y la construcción de vacunas basadas en epítomos de CTLs, para predecir la cobertura poblacional relativa de tales construcciones de vacunas, y en última instancia, ayudar en la interpretación de los resultados de futuros ensayos de vacunas contra el VIH en un contexto inmunogenético tan particular como nuestra población de estudio.

10. REFERENCIAS

- 1 UNAIDS. UNAIDS 2017 estimates. *Global AIDS Monitoring*, 2017., 1-246 (2017).
- 2 Zaidi, J., Grapsa, E., Tanser, F., Newell, M. L. & Barnighausen, T. Dramatic increase in HIV prevalence after scale-up of antiretroviral treatment. *AIDS* **27**, 2301-2305, doi:10.1097/QAD.0b013e328362e832 (2013).
- 3 Degenhardt, L. *et al.* Prevention of HIV infection for people who inject drugs: why individual, structural, and combination approaches are needed. *Lancet* **376**, 285-301, doi:10.1016/S0140-6736(10)60742-8 (2010).
- 4 Mayer, K. H. & Mimiaga, M. J. Past as prologue: the refractory and evolving HIV epidemic among men who have sex with men. *Clin Infect Dis* **52**, 1371-1373, doi:10.1093/cid/cir206 (2011).
- 5 Beyrer, C. *et al.* The increase in global HIV epidemics in MSM. *AIDS* **27**, 2665-2678, doi:10.1097/01.aids.0000432449.30239.fe (2013).

- 6 Ortblad, K. F., Lozano, R. & Murray, C. J. The burden of HIV: insights from the Global Burden of Disease Study 2010. *AIDS* **27**, 2003-2017, doi:10.1097/QAD.0b013e328362ba67 (2013).
- 7 Antiretroviral Therapy Cohort, C. Causes of death in HIV-1-infected patients treated with antiretroviral therapy, 1996-2006: collaborative analysis of 13 HIV cohort studies. *Clin Infect Dis* **50**, 1387-1396, doi:10.1086/652283 (2010).
- 8 Freiberg, M. S. *et al.* HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA Intern Med* **173**, 614-622, doi:10.1001/jamainternmed.2013.3728 (2013).
- 9 Joshi, D., O'Grady, J., Dieterich, D., Gazzard, B. & Agarwal, K. Increasing burden of liver disease in patients with HIV infection. *Lancet* **377**, 1198-1209, doi:10.1016/S0140-6736(10)62001-6 (2011).
- 10 Glaziou, P., Falzon, D., Floyd, K. & Raviglione, M. Global epidemiology of tuberculosis. *Semin Respir Crit Care Med* **34**, 3-16, doi:10.1055/s-0032-1333467 (2013).
- 11 Sonnenberg, P. *et al.* How soon after infection with HIV does the risk of tuberculosis start to increase? A retrospective cohort study in South African gold miners. *The Journal of infectious diseases* **191**, 150-158, doi:10.1086/426827 (2005).
- 12 Holmes, C. B. *et al.* CD4 decline and incidence of opportunistic infections in Cape Town, South Africa: implications for prophylaxis and treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* **42**, 464-469, doi:10.1097/01.qai.0000225729.79610.b7 (2006).
- 13 Rerks-Ngarm, S. *et al.* Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med* **361**, 2209-2220, doi:10.1056/NEJMoa0908492 (2009).
- 14 Organization, W. H. Global health estimates 2015: deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000-2015., (Geneva, 2016).
- 15 Cohen, J. HIV/AIDS: Latin America & Caribbean. Mexico & Central America. *Science* **313**, 477, doi:10.1126/science.313.5786.477a (2006).
- 16 Calleja, J. M. *et al.* Status of the HIV/AIDS epidemic and methods to monitor it in the Latin America and Caribbean region. *AIDS* **16 Suppl 3**, S3-12 (2002).
- 17 Soto-Ramirez, L. E. HIV/AIDS in Latin America. *Science* **321**, 465, doi:10.1126/science.1162896 (2008).
- 18 Cohen, J. HIV/AIDS: Latin America & Caribbean. Mexico: prevention programs target migrants. *Science* **313**, 478-479, doi:10.1126/science.313.5786.478 (2006).
- 19 Cohen, J. HIV/AIDS: Latin America & Caribbean. Mexico: land of extremes: prevention and care range from bold to bleak. *Science* **313**, 477-479, doi:10.1126/science.313.5786.477b (2006).
- 20 Sharp, P. M. & Hahn, B. H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med* **1**, a006841, doi:10.1101/cshperspect.a006841 (2011).
- 21 Hemelaar, J. *et al.* Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *AIDS* **25**, 679-689, doi:10.1097/QAD.0b013e328342ff93 (2011).
- 22 Barre-Sinoussi, F. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**, 868-871 (1983).
- 23 Gallo, R. C. *et al.* Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**, 865-867 (1983).
- 24 Levy, J. A. *et al.* Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* **225**, 840-842 (1984).
- 25 Regenmortel MH, F. C., Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, and Wickner RB. *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy, VIIth Report of the ICTV.*, (San Diego, Academic Press, 2000).
- 26 Fauci, A. S., Pantaleo, G., Stanley, S. & Weissman, D. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Ann Intern Med* **124**, 654-663 (1996).
- 27 Saah, A. J. *et al.* Association of HLA profiles with early plasma viral load, CD4+ cell count and rate of progression to AIDS following acute HIV-1 infection. Multicenter AIDS Cohort Study. *AIDS* **12**, 2107-2113 (1998).
- 28 Tindall, B. & Cooper, D. A. Primary HIV infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**, 1-14 (1991).
- 29 Borrow, P., Lewicki, H., Hahn, B. H., Shaw, G. M. & Oldstone, M. B. Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *Journal of virology* **68**, 6103-6110 (1994).
- 30 Koup, R. A. *et al.* Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *Journal of virology* **68**, 4650-4655 (1994).
- 31 Quinn, T. C. *et al.* Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* **342**, 921-929, doi:10.1056/NEJM200003303421303 (2000).
- 32 Cohen, M. S., Shaw, G. M., McMichael, A. J. & Haynes, B. F. Acute HIV-1 Infection. *N Engl J Med* **364**, 1943-1954, doi:10.1056/NEJMra1011874 (2011).
- 33 Lingappa, J. R. *et al.* Estimating the impact of plasma HIV-1 RNA reductions on heterosexual HIV-1 transmission risk. *PLoS One* **5**, e12598, doi:10.1371/journal.pone.0012598 (2010).
- 34 Baeten, J. M. *et al.* Genital HIV-1 RNA predicts risk of heterosexual HIV-1 transmission. *Sci Transl Med* **3**, 77ra29, doi:10.1126/scitranslmed.3001888 (2011).
- 35 Atashili, J., Poole, C., Ndumbe, P. M., Adimora, A. A. & Smith, J. S. Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies. *AIDS* **22**, 1493-1501, doi:10.1097/QAD.0b013e3283021a37 (2008).
- 36 Glynn, J. R., Biraro, S. & Weiss, H. A. Herpes simplex virus type 2: a key role in HIV incidence. *AIDS* **23**, 1595-1598, doi:10.1097/QAD.0b013e32832e15e8 (2009).
- 37 Rottingen, J. A., Cameron, D. W. & Garnett, G. P. A systematic review of the epidemiologic interactions between classic sexually transmitted diseases and HIV: how much really is known? *Sex Transm Dis* **28**, 579-597 (2001).
- 38 Mugo, N. R. *et al.* Increased risk of HIV-1 transmission in pregnancy: a prospective study among African HIV-1-serodiscordant couples. *AIDS* **25**, 1887-1895, doi:10.1097/QAD.0b013e32834a9338 (2011).

- 39 Baggaley, R. F., White, R. G. & Boily, M. C. HIV transmission risk through anal intercourse: systematic review, meta-analysis and implications for HIV prevention. *Int J Epidemiol* **39**, 1048-1063, doi:10.1093/ije/dyq057 (2010).
- 40 Weiss, H. A., Quigley, M. A. & Hayes, R. J. Male circumcision and risk of HIV infection in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *AIDS* **14**, 2361-2370 (2000).
- 41 Epstein, H. & Morris, M. Concurrent partnerships and HIV: an inconvenient truth. *J Int AIDS Soc* **14**, 13, doi:10.1186/1758-2652-14-13 (2011).
- 42 Tanser, F. *et al.* Effect of concurrent sexual partnerships on rate of new HIV infections in a high-prevalence, rural South African population: a cohort study. *Lancet* **378**, 247-255, doi:10.1016/S0140-6736(11)60779-4 (2011).
- 43 Crawford, N. D. & Vlahov, D. Progress in HIV reduction and prevention among injection and noninjection drug users. *J Acquir Immune Defic Syndr* **55 Suppl 2**, S84-87, doi:10.1097/QAI.0b013e3181fbc5a (2010).
- 44 Jewkes, R. K., Dunkle, K., Nduna, M. & Shai, N. Intimate partner violence, relationship power inequity, and incidence of HIV infection in young women in South Africa: a cohort study. *Lancet* **376**, 41-48, doi:10.1016/S0140-6736(10)60548-X (2010).
- 45 Ball, C. F. M. A. M. J. M. U. D. L. A. *Virus Taxonomy*. (Academic Press, 2005).
- 46 John M Coffin, S. H. H., and Harold E Varmus. *Retroviruses*. (Cold Spring Harbor, 1997).
- 47 Peterlin, B. M. & Trono, D. Hide, shield and strike back: how HIV-infected cells avoid immune eradication. *Nature reviews. Immunology* **3**, 97-107, doi:10.1038/nri998 (2003).
- 48 Greene, W. C. & Peterlin, B. M. Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy. *Nature medicine* **8**, 673-680, doi:10.1038/nm0702-673 (2002).
- 49 Kwong, P. D. *et al.* Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* **393**, 648-659, doi:10.1038/31405 (1998).
- 50 Doms, R. W. & Trono, D. The plasma membrane as a combat zone in the HIV battlefield. *Genes Dev* **14**, 2677-2688 (2000).
- 51 Scarlatti, G. *et al.* In vivo evolution of HIV-1 co-receptor usage and sensitivity to chemokine-mediated suppression. *Nature medicine* **3**, 1259-1265 (1997).
- 52 Cartier, C. *et al.* Identification of three major phosphorylation sites within HIV-1 capsid. Role of phosphorylation during the early steps of infection. *J Biol Chem* **274**, 19434-19440 (1999).
- 53 Franke, E. K., Yuan, H. E. & Luban, J. Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature* **372**, 359-362, doi:10.1038/372359a0 (1994).
- 54 Ohagen, A. & Gabuzda, D. Role of Vif in stability of the human immunodeficiency virus type 1 core. *Journal of virology* **74**, 11055-11066 (2000).
- 55 Schaeffer, E., Geleziunas, R. & Greene, W. C. Human immunodeficiency virus type 1 Nef functions at the level of virus entry by enhancing cytoplasmic delivery of virions. *Journal of virology* **75**, 2993-3000, doi:10.1128/JVI.75.6.2993-3000.2001 (2001).
- 56 Wu, Y. & Marsh, J. W. Selective transcription and modulation of resting T cell activity by preintegrated HIV DNA. *Science* **293**, 1503-1506, doi:10.1126/science.1061548 (2001).
- 57 Barboric, M., Nissen, R. M., Kanazawa, S., Jabrane-Ferrat, N. & Peterlin, B. M. NF-kappaB binds P-TEFb to stimulate transcriptional elongation by RNA polymerase II. *Mol Cell* **8**, 327-337 (2001).
- 58 Wei, P., Garber, M. E., Fang, S. M., Fischer, W. H. & Jones, K. A. A novel CDK9-associated C-type cyclin interacts directly with HIV-1 Tat and mediates its high-affinity, loop-specific binding to TAR RNA. *Cell* **92**, 451-462 (1998).
- 59 Price, D. H. P-TEFb, a cyclin-dependent kinase controlling elongation by RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* **20**, 2629-2634 (2000).
- 60 Simmons, A., Aluvihare, V. & McMichael, A. Nef triggers a transcriptional program in T cells imitating single-signal T cell activation and inducing HIV virulence mediators. *Immunity* **14**, 763-777 (2001).
- 61 Khan, I. H. *et al.* Role of the SH3-ligand domain of simian immunodeficiency virus Nef in interaction with Nef-associated kinase and simian AIDS in rhesus macaques. *Journal of virology* **72**, 5820-5830 (1998).
- 62 Lama, J., Mangasarian, A. & Trono, D. Cell-surface expression of CD4 reduces HIV-1 infectivity by blocking Env incorporation in a Nef- and Vpu-inhibitable manner. *Curr Biol* **9**, 622-631 (1999).
- 63 Zheng, Y. H., Plemenitas, A., Linnemann, T., Fackler, O. T. & Peterlin, B. M. Nef increases infectivity of HIV via lipid rafts. *Curr Biol* **11**, 875-879 (2001).
- 64 Greenway, A. L. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 Nef binds to tumor suppressor p53 and protects cells against p53-mediated apoptosis. *Journal of virology* **76**, 2692-2702 (2002).
- 65 Le Gall, S. *et al.* Nef interacts with the mu subunit of clathrin adaptor complexes and reveals a cryptic sorting signal in MHC I molecules. *Immunity* **8**, 483-495 (1998).
- 66 Jowett, J. B. *et al.* The human immunodeficiency virus type 1 vpr gene arrests infected T cells in the G2 + M phase of the cell cycle. *Journal of virology* **69**, 6304-6313 (1995).
- 67 Goh, W. C. *et al.* HIV-1 Vpr increases viral expression by manipulation of the cell cycle: a mechanism for selection of Vpr in vivo. *Nature medicine* **4**, 65-71 (1998).
- 68 Freed, E. O. HIV-1 gag proteins: diverse functions in the virus life cycle. *Virology* **251**, 1-15, doi:10.1006/viro.1998.9398 (1998).
- 69 Wilk, T. *et al.* Organization of immature human immunodeficiency virus type 1. *Journal of virology* **75**, 759-771, doi:10.1128/JVI.75.2.759-771.2001 (2001).
- 70 Zimmerman, C. *et al.* Identification of a host protein essential for assembly of immature HIV-1 capsids. *Nature* **415**, 88-92, doi:10.1038/415088a (2002).
- 71 Reyes-Teran, G. & Alcocer Varela, J. [Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection]. *Rev Invest Clin* **46**, 113-147 (1994).
- 72 Pantaleo, G. & Fauci, A. S. Tracking HIV during disease progression. *Curr Opin Immunol* **6**, 600-604 (1994).

- 73 Kahn, J. O. & Walker, B. D. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* **339**, 33-39, doi:10.1056/NEJM199807023390107 (1998).
- 74 Mellors, J. W. *et al.* Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* **272**, 1167-1170 (1996).
- 75 Schacker, T. W., Hughes, J. P., Shea, T., Coombs, R. W. & Corey, L. Biological and virologic characteristics of primary HIV infection. *Ann Intern Med* **128**, 613-620 (1998).
- 76 Maartens, G., Celum, C. & Lewin, S. R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet* **384**, 258-271, doi:10.1016/S0140-6736(14)60164-1 (2014).
- 77 Haynes, B. F., Pantaleo, G. & Fauci, A. S. Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. *Science* **271**, 324-328 (1996).
- 78 Cao, Y., Qin, L., Zhang, L., Safrin, J. & Ho, D. D. Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* **332**, 201-208, doi:10.1056/NEJM199501263320401 (1995).
- 79 Deeks, S. G. & Walker, B. D. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity* **27**, 406-416, doi:10.1016/j.immuni.2007.08.010 (2007).
- 80 Lanier, L. L. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol* **23**, 225-274, doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115526 (2005).
- 81 Wilson, M. J. *et al.* Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**, 4778-4783, doi:10.1073/pnas.080588597 (2000).
- 82 Lanier, L. L., Corliss, B. C., Wu, J., Leong, C. & Phillips, J. H. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* **391**, 703-707, doi:10.1038/35642 (1998).
- 83 Uhrberg, M. *et al.* Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity* **7**, 753-763 (1997).
- 84 Martin, M. P., Single, R. M., Wilson, M. J., Trowsdale, J. & Carrington, M. KIR haplotypes defined by segregation analysis in 59 Centre d'Etude Polymorphisme Humain (CEPH) families. *Immunogenetics* **60**, 767-774, doi:10.1007/s00251-008-0334-y (2008).
- 85 Pyo, C. W. *et al.* Recombinant structures expand and contract inter and intragenic diversification at the KIR locus. *BMC Genomics* **14**, 89, doi:10.1186/1471-2164-14-89 (2013).
- 86 Traherne, J. A. *et al.* Mechanisms of copy number variation and hybrid gene formation in the KIR immune gene complex. *Hum Mol Genet* **19**, 737-751, doi:10.1093/hmg/ddp538 (2010).
- 87 Marsh SGE, A. E., Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GMTh, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI. *IPD-KIR*, <<https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/alleles.html>> (2017).
- 88 Cella, M., Longo, A., Ferrara, G. B., Strominger, J. L. & Colonna, M. NK3-specific natural killer cells are selectively inhibited by Bw4-positive HLA alleles with isoleucine 80. *The Journal of experimental medicine* **180**, 1235-1242 (1994).
- 89 Gumperz, J. E., Litwin, V., Phillips, J. H., Lanier, L. L. & Parham, P. The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor. *The Journal of experimental medicine* **181**, 1133-1144 (1995).
- 90 Alter, G. *et al.* Differential natural killer cell-mediated inhibition of HIV-1 replication based on distinct KIR/HLA subtypes. *The Journal of experimental medicine* **204**, 3027-3036, doi:10.1084/jem.20070695 (2007).
- 91 Martin, M. P. *et al.* Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nature genetics* **31**, 429-434, doi:10.1038/ng934 (2002).
- 92 Qi, Y. *et al.* KIR/HLA pleiotropism: protection against both HIV and opportunistic infections. *PLoS Pathog* **2**, e79, doi:10.1371/journal.ppat.0020079 (2006).
- 93 Single, R. M. *et al.* Global diversity and evidence for coevolution of KIR and HLA. *Nature genetics* **39**, 1114-1119, doi:10.1038/ng2077 (2007).
- 94 Biassoni, R. *et al.* Amino acid substitutions can influence the natural killer (NK)-mediated recognition of HLA-C molecules. Role of serine-77 and lysine-80 in the target cell protection from lysis mediated by "group 2" or "group 1" NK clones. *The Journal of experimental medicine* **182**, 605-609 (1995).
- 95 Colonna, M., Borsellino, G., Falco, M., Ferrara, G. B. & Strominger, J. L. HLA-C is the inhibitory ligand that determines dominant resistance to lysis by NK1- and NK2-specific natural killer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **90**, 12000-12004 (1993).
- 96 Winter, C. C., Gumperz, J. E., Parham, P., Long, E. O. & Wagtmann, N. Direct binding and functional transfer of NK cell inhibitory receptors reveal novel patterns of HLA-C allotype recognition. *J Immunol* **161**, 571-577 (1998).
- 97 Dohring, C., Scheidegger, D., Samaridis, J., Cella, M. & Colonna, M. A human killer inhibitory receptor specific for HLA-A1,2. *J Immunol* **156**, 3098-3101 (1996).
- 98 Pende, D. *et al.* The natural killer cell receptor specific for HLA-A allotypes: a novel member of the p58/p70 family of inhibitory receptors that is characterized by three immunoglobulin-like domains and is expressed as a 140-kD disulphide-linked dimer. *The Journal of experimental medicine* **184**, 505-518 (1996).
- 99 Rajagopalan, S. & Long, E. O. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *The Journal of experimental medicine* **189**, 1093-1100 (1999).
- 100 Graef, T. *et al.* KIR2DS4 is a product of gene conversion with KIR3DL2 that introduced specificity for HLA-A*11 while diminishing avidity for HLA-C. *The Journal of experimental medicine* **206**, 2557-2572, doi:10.1084/jem.20091010 (2009).
- 101 Biassoni, R. *et al.* Role of amino acid position 70 in the binding affinity of p50.1 and p58.1 receptors for HLA-Cw4 molecules. *Eur J Immunol* **27**, 3095-3099, doi:10.1002/eji.1830271203 (1997).
- 102 Jonsson, A. H. & Yokoyama, W. M. Natural killer cell tolerance licensing and other mechanisms. *Adv Immunol* **101**, 27-79, doi:10.1016/S0065-2776(08)01002-X (2009).
- 103 Borhis, G. *et al.* A peptide antagonist disrupts NK cell inhibitory synapse formation. *J Immunol* **190**, 2924-2930, doi:10.4049/jimmunol.1201032 (2013).

104 Fadda, L. *et al.* Peptide antagonism as a mechanism for NK cell activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 10160-10165, doi:10.1073/pnas.0913745107 (2010).

105 Carrington, M. *et al.* HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. *Science* **283**, 1748-1752 (1999).

106 O'Connor, S. L. *et al.* MHC heterozygote advantage in simian immunodeficiency virus-infected Mauritian cynomolgus macaques. *Sci Transl Med* **2**, 22ra18, doi:10.1126/scitranslmed.3000524 (2010).

107 Kawashima, Y. *et al.* Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature* **458**, 641-645, doi:10.1038/nature07746 (2009).

108 Trachtenberg, E. *et al.* Advantage of rare HLA supertype in HIV disease progression. *Nature medicine* **9**, 928-935, doi:10.1038/nm893 (2003).

109 Brockman, M. A. *et al.* Escape and compensation from early HLA-B57-mediated cytotoxic T-lymphocyte pressure on human immunodeficiency virus type 1 Gag alter capsid interactions with cyclophilin A. *Journal of virology* **81**, 12608-12618, doi:10.1128/JVI.01369-07 (2007).

110 Leslie, A. J. *et al.* HIV evolution: CTL escape mutation and reversion after transmission. *Nature medicine* **10**, 282-289, doi:10.1038/nm992 (2004).

111 Martinez-Picado, J. *et al.* Fitness cost of escape mutations in p24 Gag in association with control of human immunodeficiency virus type 1. *Journal of virology* **80**, 3617-3623, doi:10.1128/JVI.80.7.3617-3623.2006 (2006).

112 Miura, T. *et al.* HLA-B57/B*5801 human immunodeficiency virus type 1 elite controllers select for rare gag variants associated with reduced viral replication capacity and strong cytotoxic T-lymphocyte [corrected] recognition. *Journal of virology* **83**, 2743-2755, doi:10.1128/JVI.02265-08 (2009).

113 Altfeld, M. *et al.* HLA Alleles Associated with Delayed Progression to AIDS Contribute Strongly to the Initial CD8(+) T Cell Response against HIV-1. *PLoS Med* **3**, e403, doi:10.1371/journal.pmed.0030403 (2006).

114 Goulder, P. J. *et al.* Late escape from an immunodominant cytotoxic T-lymphocyte response associated with progression to AIDS. *Nature medicine* **3**, 212-217 (1997).

115 Kelleher, A. D. *et al.* Clustered mutations in HIV-1 gag are consistently required for escape from HLA-B27-restricted cytotoxic T lymphocyte responses. *The Journal of experimental medicine* **193**, 375-386 (2001).

116 Schneidewind, A. *et al.* Escape from the dominant HLA-B27-restricted cytotoxic T-lymphocyte response in Gag is associated with a dramatic reduction in human immunodeficiency virus type 1 replication. *Journal of virology* **81**, 12382-12393, doi:10.1128/JVI.01543-07 (2007).

117 Gao, X. *et al.* Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. *N Engl J Med* **344**, 1668-1675, doi:10.1056/NEJM200105313442203 (2001).

118 Huang, J. *et al.* HLA-B*35-Px-mediated acceleration of HIV-1 infection by increased inhibitory immunoregulatory impulses. *The Journal of experimental medicine* **206**, 2959-2966, doi:10.1084/jem.20091386 (2009).

119 Flores-Villanueva, P. O. *et al.* Control of HIV-1 viremia and protection from AIDS are associated with HLA-Bw4 homozygosity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 5140-5145, doi:10.1073/pnas.071548198 (2001).

120 Zhang, Y. *et al.* Multilayered defense in HLA-B51-associated HIV viral control. *J Immunol* **187**, 684-691, doi:10.4049/jimmunol.1100316 (2011).

121 Kiepiela, P. *et al.* Dominant influence of HLA-B in mediating the potential co-evolution of HIV and HLA. *Nature* **432**, 769-775, doi:10.1038/nature03113 (2004).

122 Ngumbela, K. C. *et al.* Targeting of a CD8 T cell env epitope presented by HLA-B*5802 is associated with markers of HIV disease progression and lack of selection pressure. *AIDS Res Hum Retroviruses* **24**, 72-82, doi:10.1089/aid.2007.0124 (2008).

123 Harrer, E. G. *et al.* A conserved HLA B13-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope in Nef is a dominant epitope in HLA B13-positive HIV-1-infected patients. *AIDS* **19**, 734-735 (2005).

124 Honeyborne, I. *et al.* Control of human immunodeficiency virus type 1 is associated with HLA-B*13 and targeting of multiple gag-specific CD8+ T-cell epitopes. *Journal of virology* **81**, 3667-3672, doi:10.1128/JVI.02689-06 (2007).

125 Wright, J. K. *et al.* Gag-protease-mediated replication capacity in HIV-1 subtype C chronic infection: associations with HLA type and clinical parameters. *Journal of virology* **84**, 10820-10831, doi:10.1128/JVI.01084-10 (2010).

126 Malhotra, U. *et al.* Role for HLA class II molecules in HIV-1 suppression and cellular immunity following antiretroviral treatment. *J Clin Invest* **107**, 505-517, doi:10.1172/JCI11275 (2001).

127 Lacap, P. A. *et al.* Associations of human leukocyte antigen DRB with resistance or susceptibility to HIV-1 infection in the Pumwani Sex Worker Cohort. *AIDS* **22**, 1029-1038, doi:10.1097/QAD.0b013e3282ffb3db (2008).

128 Ndung'u, T. *et al.* Major histocompatibility complex class II (HLA-DRB and -DQB) allele frequencies in Botswana: association with human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Diagn Lab Immunol* **12**, 1020-1028, doi:10.1128/CDLI.12.9.1020-1028.2005 (2005).

129 Julg, B. *et al.* Possession of HLA class II DRB1*1303 associates with reduced viral loads in chronic HIV-1 clade C and B infection. *The Journal of infectious diseases* **203**, 803-809, doi:10.1093/infdis/jiq122 (2011).

130 Hughes, A. L. & Yeager, M. Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annu Rev Genet* **32**, 415-435, doi:10.1146/annurev.genet.32.1.415 (1998).

131 Parham, P. & Ohta, T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science* **272**, 67-74 (1996).

132 Tang, J. *et al.* HLA class I homozygosity accelerates disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* **15**, 317-324, doi:10.1089/088922299311277 (1999).

133 Gao, X. *et al.* AIDS restriction HLA allotypes target distinct intervals of HIV-1 pathogenesis. *Nature medicine* **11**, 1290-1292, doi:10.1038/nm1333 (2005).

134 Kaslow, R. A. *et al.* Influence of combinations of human major histocompatibility complex genes on the course of HIV-1 infection. *Nature medicine* **2**, 405-411 (1996).

135 Migueles, S. A. *et al.* HLA B*5701 is highly associated with restriction of virus replication in a subgroup of HIV-infected long term
nonprogressors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**, 2709-2714,
doi:10.1073/pnas.050567397 (2000).

136 Pereyra, F. *et al.* Genetic and immunologic heterogeneity among persons who control HIV infection in the absence of therapy. *The Journal
of infectious diseases* **197**, 563-571, doi:10.1086/526786 (2008).

137 Altfeld, M. *et al.* Influence of HLA-B57 on clinical presentation and viral control during acute HIV-1 infection. *AIDS* **17**, 2581-2591,
doi:10.1097/01.aids.0000096870.36052.b6 (2003).

138 Brumme, Z. L. *et al.* Marked epitope- and allele-specific differences in rates of mutation in human immunodeficiency type 1 (HIV-1) Gag,
Pol, and Nef cytotoxic T-lymphocyte epitopes in acute/early HIV-1 infection. *Journal of virology* **82**, 9216-9227, doi:10.1128/JVI.01041-08
(2008).

139 Crawford, H. *et al.* Evolution of HLA-B*5703 HIV-1 escape mutations in HLA-B*5703-positive individuals and their transmission recipients.
The Journal of experimental medicine **206**, 909-921, doi:10.1084/jem.20081984 (2009).

140 Klein, M. R. *et al.* Characterization of HLA-B57-restricted human immunodeficiency virus type 1 Gag- and RT-specific cytotoxic T lymphocyte
responses. *J Gen Virol* **79** (Pt 9), 2191-2201, doi:10.1099/0022-1317-79-9-2191 (1998).

141 Migueles, S. A. *et al.* The differential ability of HLA B*5701+ long-term nonprogressors and progressors to restrict human immunodeficiency
virus replication is not caused by loss of recognition of autologous viral gag sequences. *Journal of virology* **77**, 6889-6898 (2003).

142 Gillespie, G. M. *et al.* Cross-reactive cytotoxic T lymphocytes against a HIV-1 p24 epitope in slow progressors with B*57. *AIDS* **16**, 961-972
(2002).

143 Yu, X. G. *et al.* Mutually exclusive T-cell receptor induction and differential susceptibility to human immunodeficiency virus type 1
mutational escape associated with a two-amino-acid difference between HLA class I subtypes. *Journal of virology* **81**, 1619-1631,
doi:10.1128/JVI.01580-06 (2007).

144 Allen, T. M. *et al.* Selective escape from CD8+ T-cell responses represents a major driving force of human immunodeficiency virus type 1
(HIV-1) sequence diversity and reveals constraints on HIV-1 evolution. *Journal of virology* **79**, 13239-13249, doi:10.1128/JVI.79.21.13239-
13249.2005 (2005).

145 Borrow, P. *et al.* Antiviral pressure exerted by HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) during primary infection demonstrated by rapid
selection of CTL escape virus. *Nature medicine* **3**, 205-211 (1997).

146 Cao, J., McNevin, J., Malhotra, U. & McElrath, M. J. Evolution of CD8+ T cell immunity and viral escape following acute HIV-1 infection. *J
Immunol* **171**, 3837-3846 (2003).

147 Goonetilleke, N. *et al.* The first T cell response to transmitted/founder virus contributes to the control of acute viremia in HIV-1 infection.
The Journal of experimental medicine **206**, 1253-1272, doi:10.1084/jem.20090365 (2009).

148 Liu, Y. *et al.* Selection on the human immunodeficiency virus type 1 proteome following primary infection. *Journal of virology* **80**, 9519-
9529, doi:10.1128/JVI.00575-06 (2006).

149 Price, D. A. *et al.* Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocyte escape variants during primary infection. *Proceedings of the National
Academy of Sciences of the United States of America* **94**, 1890-1895 (1997).

150 Kosmrlj, A. *et al.* Effects of thymic selection of the T-cell repertoire on HLA class I-associated control of HIV infection. *Nature* **465**, 350-354,
doi:10.1038/nature08997 (2010).

151 Kloverpris, H. N. *et al.* HLA-B*57 Micropolymorphism shapes HLA allele-specific epitope immunogenicity, selection pressure, and HIV
immune control. *Journal of virology* **86**, 919-929, doi:10.1128/JVI.06150-11 (2012).

152 Elahi, S. *et al.* Protective HIV-specific CD8+ T cells evade Treg cell suppression. *Nature medicine* **17**, 989-995, doi:10.1038/nm.2422 (2011).

153 Zhu, C. *et al.* The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* **6**, 1245-1252, doi:10.1038/ni1271
(2005).

154 Li, X. C. & Turka, L. A. An update on regulatory T cells in transplant tolerance and rejection. *Nat Rev Nephrol* **6**, 577-583,
doi:10.1038/nrneph.2010.101 (2010).

155 Hendel, H. *et al.* New class I and II HLA alleles strongly associated with opposite patterns of progression to AIDS. *J Immunol* **162**, 6942-6946
(1999).

156 Feeney, M. E. *et al.* Immune escape precedes breakthrough human immunodeficiency virus type 1 viremia and broadening of the cytotoxic
T-lymphocyte response in an HLA-B27-positive long-term-nonprogressing child. *Journal of virology* **78**, 8927-8930,
doi:10.1128/JVI.78.16.8927-8930.2004 (2004).

157 Goulder, P. J. *et al.* Evolution and transmission of stable CTL escape mutations in HIV infection. *Nature* **412**, 334-338, doi:10.1038/35085576
(2001).

158 Lichtenfeld, M. *et al.* A viral CTL escape mutation leading to immunoglobulin-like transcript 4-mediated functional inhibition of
myelomonocytic cells. *The Journal of experimental medicine* **204**, 2813-2824, doi:10.1084/jem.20061865 (2007).

159 Itescu, S. *et al.* HLA-B35 is associated with accelerated progression to AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr* **5**, 37-45 (1992).

160 Sahnoud, T. *et al.* Progression to AIDS in French haemophiliacs: association with HLA-B35. *AIDS* **7**, 497-500 (1993).

161 Scorza Smeraldi, R. *et al.* HLA-Associated susceptibility to acquired immunodeficiency syndrome in Italian patients with human-
immunodeficiency-virus infection. *Lancet* **2**, 1187-1189 (1986).

162 Falk, K. *et al.* Peptide motifs of HLA-B35 and -B37 molecules. *Immunogenetics* **38**, 161-162 (1993).

163 Hill, A. V. *et al.* Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature* **360**, 434-439,
doi:10.1038/360434a0 (1992).

164 Steinle, A. *et al.* Motif of HLA-B*3503 peptide ligands. *Immunogenetics* **43**, 105-107 (1996).

165 Huang, K. H. *et al.* Progression to AIDS in South Africa is associated with both reverting and compensatory viral mutations. *PLoS One* **6**,
e19018, doi:10.1371/journal.pone.0019018 (2011).

166 Streeck, H. *et al.* Recognition of a defined region within p24 gag by CD8+ T cells during primary human immunodeficiency virus type 1
infection in individuals expressing protective HLA class I alleles. *Journal of virology* **81**, 7725-7731, doi:10.1128/JVI.00708-07 (2007).

167 Jin, X. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific CD8+T-cell responses for groups of HIV-1-infected individuals with
different HLA-B*35 genotypes. *Journal of virology* **76**, 12603-12610 (2002).

168 Colonna, M., Nakajima, H., Navarro, F. & Lopez-Botet, M. A novel family of Ig-like receptors for HLA class I molecules that modulate function
of lymphoid and myeloid cells. *J Leukoc Biol* **66**, 375-381 (1999).

169 Colonna, M. *et al.* A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and
myelomonocytic cells. *The Journal of experimental medicine* **186**, 1809-1818 (1997).

170 Huang, J. *et al.* Dendritic cell dysfunction during primary HIV-1 infection. *The Journal of infectious diseases* **204**, 1557-1562,
doi:10.1093/infdis/jir616 (2011).

171 Welzel, T. M. *et al.* HLA-B Bw4 alleles and HIV-1 transmission in heterosexual couples. *AIDS* **21**, 225-229,
doi:10.1097/QAD.0b013e3280123840 (2007).

172 McLaren, P. J. *et al.* Fine-mapping classical HLA variation associated with durable host control of HIV-1 infection in African Americans. *Hum
Mol Genet* **21**, 4334-4347, doi:10.1093/hmg/dds226 (2012).

173 Martin, M. P. & Carrington, M. Immunogenetics of HIV disease. *Immunol Rev* **254**, 245-264, doi:10.1111/imr.12071 (2013).

174 Douek, D. C. *et al.* HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature* **417**, 95-98, doi:10.1038/417095a (2002).

175 McNeil, A. C. *et al.* High-level HIV-1 viremia suppresses viral antigen-specific CD4(+) T cell proliferation. *Proceedings of the National
Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 13878-13883, doi:10.1073/pnas.251539598 (2001).

176 Palmer, B. E., Boritz, E., Blyveis, N. & Wilson, C. C. Discordance between frequency of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific
gamma interferon-producing CD4(+) T cells and HIV-1-specific lymphoproliferation in HIV-1-infected subjects with active viral replication.
Journal of virology **76**, 5925-5936 (2002).

177 Janssen, E. M. *et al.* CD4+ T cells are required for secondary expansion and memory in CD8+ T lymphocytes. *Nature* **421**, 852-856,
doi:10.1038/nature01441 (2003).

178 Kalams, S. A. & Walker, B. D. The critical need for CD4 help in maintaining effective cytotoxic T lymphocyte responses. *The Journal of
experimental medicine* **188**, 2199-2204 (1998).

179 Sun, J. C. & Bevan, M. J. Defective CD8 T cell memory following acute infection without CD4 T cell help. *Science* **300**, 339-342,
doi:10.1126/science.1083317 (2003).

180 Sun, J. C., Williams, M. A. & Bevan, M. J. CD4+ T cells are required for the maintenance, not programming, of memory CD8+ T cells after
acute infection. *Nat Immunol* **5**, 927-933, doi:10.1038/ni1105 (2004).

181 Tang, J. *et al.* HLA-DRB1 and -DQB1 alleles and haplotypes in Zambian couples and their associations with heterosexual transmission of HIV
type 1. *The Journal of infectious diseases* **189**, 1696-1704, doi:10.1086/383280 (2004).

182 Stamatatos, L., Morris, L., Burton, D. R. & Mascola, J. R. Neutralizing antibodies generated during natural HIV-1 infection: good news for an
HIV-1 vaccine? *Nature medicine* **15**, 866-870, doi:10.1038/nm.1949 (2009).

183 Trkola, A. *et al.* Cross-clade neutralization of primary isolates of human immunodeficiency virus type 1 by human monoclonal antibodies
and tetrameric CD4-IgG. *Journal of virology* **69**, 6609-6617 (1995).

184 Walker, L. M. *et al.* Broad and potent neutralizing antibodies from an African donor reveal a new HIV-1 vaccine target. *Science* **326**, 285-
289, doi:10.1126/science.1178746 (2009).

185 Wu, X. *et al.* Rational design of envelope identifies broadly neutralizing human monoclonal antibodies to HIV-1. *Science* **329**, 856-861,
doi:10.1126/science.1187659 (2010).

186 Fellay, J. *et al.* A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science* **317**, 944-947,
doi:10.1126/science.1143767 (2007).

187 International_HIV_Controllers_Study *et al.* The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science*
330, 1551-1557, doi:10.1126/science.1195271 (2010).

188 Pelak, K. *et al.* Host determinants of HIV-1 control in African Americans. *The Journal of infectious diseases* **201**, 1141-1149,
doi:10.1086/651382 (2010).

189 Goldstein, D. B. Common genetic variation and human traits. *N Engl J Med* **360**, 1696-1698, doi:10.1056/NEJMp0806284 (2009).

190 Shea, P. R., Shianna, K. V., Carrington, M. & Goldstein, D. B. Host genetics of HIV acquisition and viral control. *Annual review of medicine*
64, 203-217, doi:10.1146/annurev-med-052511-135400 (2013).

191 Dalmasso, C. *et al.* Distinct genetic loci control plasma HIV-RNA and cellular HIV-DNA levels in HIV-1 infection: the ANRS Genome Wide
Association 01 study. *PLoS One* **3**, e3907, doi:10.1371/journal.pone.0003907 (2008).

192 Gao, G. F. *et al.* Classical and nonclassical class I major histocompatibility complex molecules exhibit subtle conformational differences that
affect binding to CD8alphaalpha. *J Biol Chem* **275**, 15232-15238 (2000).

193 Martinez-Naves, E. *et al.* Interactions of HLA-B*4801 with peptide and CD8. *Tissue antigens* **50**, 258-264 (1997).

194 Carrington, M., Dean, M., Martin, M. P. & O'Brien, S. J. Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its
consequences. *Hum Mol Genet* **8**, 1939-1945 (1999).

195 Fellay, J. *et al.* Common genetic variation and the control of HIV-1 in humans. *PLoS Genet* **5**, e1000791, doi:10.1371/journal.pgen.1000791
(2009).

196 Abbas, A. K., Lichtman, A. H. & Pillai, S. *Cellular and molecular immunology*. Eighth edition. edn, (Elsevier Saunders, 2015).

- 197 Snell, G. D. & Higgins, G. F. Alleles at the histocompatibility-2 locus in the mouse as determined by tumor transplantation. *Genetics* **36**, 306-310 (1951).
- 198 Janeway, C. *Immunobiology : the immune system in health and disease*. 6th edn, (Garland Science, 2005).
- 199 Klein, J., Satta, Y., O'Heuigen, C. & Takahata, N. The molecular descent of the major histocompatibility complex. *Annu Rev Immunol* **11**, 269-295, doi:10.1146/annurev.iy.11.040193.001413 (1993).
- 200 Le Bouteiller, P. HLA class I chromosomal region, genes, and products: facts and questions. *Crit Rev Immunol* **14**, 89-129 (1994).
- 201 Hughes, A. L. Origin and evolution of HLA class I pseudogenes. *Mol Biol Evol* **12**, 247-258, doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040201 (1995).
- 202 Monaco, J. J. Structure and function of genes in the MHC class II region. *Curr Opin Immunol* **5**, 17-20 (1993).
- 203 Robinson J, H. J., Hayhurst JH, Flicek P, Parham P, Marsh SGE. *The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases Nucleic Acids Research*. URL: hla.alleles.org, 2015, 43:D423-431).
- 204 Marsh, S. G. *et al.* Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue antigens* **75**, 291-455, doi:10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x (2010).
- 205 Mungall, A. J. *et al.* The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature* **425**, 805-811, doi:10.1038/nature02055 (2003).
- 206 Anthony, D. D. & Lehmann, P. V. T-cell epitope mapping using the ELISPOT approach. *Methods* **29**, 260-269 (2003).
- 207 Hoffmeister, B. *et al.* Mapping T cell epitopes by flow cytometry. *Methods* **29**, 270-281 (2003).
- 208 Maecker, H. T. *et al.* Use of overlapping peptide mixtures as antigens for cytokine flow cytometry. *J Immunol Methods* **255**, 27-40 (2001).
- 209 Addo, M. M. *et al.* The HIV-1 regulatory proteins Tat and Rev are frequently targeted by cytotoxic T lymphocytes derived from HIV-1-infected individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 1781-1786, doi:10.1073/pnas.98.4.1781 (2001).
- 210 Addo, M. M. *et al.* Comprehensive epitope analysis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific T-cell responses directed against the entire expressed HIV-1 genome demonstrate broadly directed responses, but no correlation to viral load. *Journal of virology* **77**, 2081-2092 (2003).
- 211 Altfeld, M. *et al.* Vpr is preferentially targeted by CTL during HIV-1 infection. *J Immunol* **167**, 2743-2752 (2001).
- 212 Betts, M. R. *et al.* Putative immunodominant human immunodeficiency virus-specific CD8(+) T-cell responses cannot be predicted by major histocompatibility complex class I haplotype. *Journal of virology* **74**, 9144-9151 (2000).
- 213 Precopio, M. L. *et al.* Optimizing peptide matrices for identifying T-cell antigens. *Cytometry A* **73**, 1071-1078, doi:10.1002/cyto.a.20646 (2008).
- 214 Roederer, M. & Koup, R. A. Optimized determination of T cell epitope responses. *J Immunol Methods* **274**, 221-228 (2003).
- 215 Kroner, B. L. *et al.* Concordance of human leukocyte antigen haplotype-sharing, CD4 decline and AIDS in hemophilic siblings. Multicenter Hemophilia Cohort and Hemophilia Growth and Development Studies. *AIDS* **9**, 275-280 (1995).
- 216 Carlson, J. M. *et al.* Widespread impact of HLA restriction on immune control and escape pathways of HIV-1. *Journal of virology* **86**, 5230-5243, doi:10.1128/JVI.06728-11 (2012).
- 217 Carrington, M. & O'Brien, S. J. The influence of HLA genotype on AIDS. *Annual review of medicine* **54**, 535-551, doi:10.1146/annurev.med.54.101601.152346 (2003).
- 218 Costello, C. *et al.* HLA-B*5703 independently associated with slower HIV-1 disease progression in Rwandan women. *AIDS* **13**, 1990-1991 (1999).
- 219 Klein, M. R. *et al.* Associations between HLA frequencies and pathogenic features of human immunodeficiency virus type 1 infection in seroconverters from the Amsterdam cohort of homosexual men. *The Journal of infectious diseases* **169**, 1244-1249 (1994).
- 220 Koehler, R. N. *et al.* Class I HLA-A*7401 is associated with protection from HIV-1 acquisition and disease progression in Mbeya, Tanzania. *The Journal of infectious diseases* **202**, 1562-1566, doi:10.1086/656913 (2010).
- 221 Lazaryan, A. *et al.* Human leukocyte antigen B58 supertype and human immunodeficiency virus type 1 infection in native Africans. *Journal of virology* **80**, 6056-6060, doi:10.1128/JVI.02119-05 (2006).
- 222 Lazaryan, A. *et al.* The influence of human leukocyte antigen class I alleles and their population frequencies on human immunodeficiency virus type 1 control among African Americans. *Human immunology* **72**, 312-318, doi:10.1016/j.humimm.2011.01.003 (2011).
- 223 Leslie, A. *et al.* Additive contribution of HLA class I alleles in the immune control of HIV-1 infection. *Journal of virology* **84**, 9879-9888, doi:10.1128/JVI.00320-10 (2010).
- 224 MacDonald, K. S. *et al.* Influence of HLA supertypes on susceptibility and resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection. *The Journal of infectious diseases* **181**, 1581-1589, doi:10.1086/315472 (2000).
- 225 Matthews, P. C. *et al.* HLA-A*7401-mediated control of HIV viremia is independent of its linkage disequilibrium with HLA-B*5703. *J Immunol* **186**, 5675-5686, doi:10.4049/jimmunol.1003711 (2011).
- 226 Matthews, P. C. *et al.* Co-operative additive effects between HLA alleles in control of HIV-1. *PLoS One* **7**, e47799, doi:10.1371/journal.pone.0047799 (2012).
- 227 Naruto, T. *et al.* HLA class I-mediated control of HIV-1 in the Japanese population, in which the protective HLA-B*57 and HLA-B*27 alleles are absent. *Journal of virology* **86**, 10870-10872, doi:10.1128/JVI.00689-12 (2012).
- 228 O'Brien, S. J., Gao, X. & Carrington, M. HLA and AIDS: a cautionary tale. *Trends in molecular medicine* **7**, 379-381 (2001).
- 229 Tang, J. *et al.* Human leukocyte antigens and HIV type 1 viral load in early and chronic infection: predominance of evolving relationships. *PLoS One* **5**, e9629, doi:10.1371/journal.pone.0009629 (2010).
- 230 Tang, J. *et al.* Favorable and unfavorable HLA class I alleles and haplotypes in Zambians predominantly infected with clade C human immunodeficiency virus type 1. *Journal of virology* **76**, 8276-8284 (2002).

231 Barquera, R. *et al.* HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Molecular immunology* **45**, 1171-1178, doi:10.1016/j.molimm.2007.07.042 (2008).

232 Gorodezky, C. *et al.* The genetic structure of Mexican Mestizos of different locations: tracking back their origins through MHC genes, blood group systems, and microsatellites. *Human immunology* **62**, 979-991 (2001).

233 Brumme, Z. L. *et al.* Evidence of differential HLA class I-mediated viral evolution in functional and accessory/regulatory genes of HIV-1. *PLoS Pathog* **3**, e94, doi:10.1371/journal.ppat.0030094 (2007).

234 Brumme, Z. L. *et al.* HLA-Associated immune escape pathways in HIV-1 subtype B Gag, Pol and Nef proteins. *PLoS One* **4**, e6687, doi:10.1371/journal.pone.0006687 (2009).

235 Avila-Rios, S. *et al.* HIV-1 drug resistance surveillance in antiretroviral treatment-naive individuals from a reference hospital in Guatemala, 2010-2013. *AIDS Res Hum Retroviruses* **31**, 401-411, doi:10.1089/aid.2014.0057 (2015).

236 Avila-Rios, S. *et al.* HIV Drug Resistance Surveillance in Honduras after a Decade of Widespread Antiretroviral Therapy. *PLoS One* **10**, e0142604, doi:10.1371/journal.pone.0142604 (2015).

237 Avila-Rios, S. *et al.* HIV Drug Resistance in Antiretroviral Treatment-Naive Individuals in the Largest Public Hospital in Nicaragua, 2011-2015. *PLoS One* **11**, e0164156, doi:10.1371/journal.pone.0164156 (2016).

238 Mendoza, Y. *et al.* Molecular epidemiology of HIV-1 in Panama: origin of non-B subtypes in samples collected from 2007 to 2013. *PLoS One* **9**, e85153, doi:10.1371/journal.pone.0085153 (2014).

239 Patterson, S. *et al.* Cohort Profile: HAART Observational Medical Evaluation and Research (HOMER) cohort. *Int J Epidemiol* **44**, 58-67, doi:10.1093/ije/dyu046 (2015).

240 Listgarten, J. *et al.* Statistical resolution of ambiguous HLA typing data. *PLoS computational biology* **4**, e1000016, doi:10.1371/journal.pcbi.1000016 (2008).

241 Siepel, A. C., Halpern, A. L., Macken, C. & Korber, B. T. A computer program designed to screen rapidly for HIV type 1 intersubtype recombinant sequences. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11**, 1413-1416, doi:10.1089/aid.1995.11.1413 (1995).

242 Cotton, L. A. *et al.* HLA class I sequence-based typing using DNA recovered from frozen plasma. *J Immunol Methods* **382**, 40-47, doi:10.1016/j.jim.2012.05.003 (2012).

243 Mack, S. J. *et al.* Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue antigens* **81**, 194-203, doi:10.1111/tan.12093 (2013).

244 Soto-Nava, M. *et al.* Weaker HLA Footprints on HIV in the Unique and Highly Genetically Admixed Host Population of Mexico. *Journal of virology* **92**, doi:10.1128/JVI.01128-17 (2018).

245 Kumasaka, N., Nakamura, Y. & Kamatani, N. The textile plot: a new linkage disequilibrium display of multiple-single nucleotide polymorphism genotype data. *PLoS One* **5**, e10207, doi:10.1371/journal.pone.0010207 (2010).

246 Carlson, J., Heckerman, D. & G, S. False Discovery Rate Calculator for 2x2 Contingency Tables. (<https://mscompbio.codeplex.com/wikipage?title=False%20Discovery%20Rate&referringTitle=Home>, 2009).

247 Mellors, J. W. *et al.* Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* **126**, 946-954 (1997).

248 Fahey, J. L. *et al.* The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* **322**, 166-172, doi:10.1056/NEJM199001183220305 (1990).

249 Garrido-Rodriguez, D. *et al.* Killer cell immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen gene profiles in a cohort of HIV-infected Mexican Mestizos. *Immunogenetics* **68**, 703-717, doi:10.1007/s00251-016-0920-3 (2016).

250 Storey, J. D. A direct approach to false discovery rates. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)* **64**, 479-498 (2002).

251 R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R foundation for Statistical Computing. (<http://www.r-project.org/>) v. 3.3.3 (Vienna, Austria, 2013).

252 Frahm, N. *et al.* Consistent cytotoxic-T-lymphocyte targeting of immunodominant regions in human immunodeficiency virus across multiple ethnicities. *Journal of virology* **78**, 2187-2200 (2004).

253 Kern, F. *et al.* Target structures of the CD8(+)-T-cell response to human cytomegalovirus: the 72-kilodalton major immediate-early protein revisited. *Journal of virology* **73**, 8179-8184 (1999).

254 S. G. E. Marsh, P. P., and L. D. Barber. *Marsh2000. The HLA Factsbook.* (Academic Press, 2000).

255 Rammensee, H., Bachmann, J., Emmerich, N. P., Bachor, O. A. & Stevanovic, S. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs. *Immunogenetics* **50**, 213-219 (1999).

256 De Boni, R., Veloso, V. G. & Grinsztejn, B. Epidemiology of HIV in Latin America and the Caribbean. *Curr Opin HIV AIDS* **9**, 192-198, doi:10.1097/COH.0000000000000031 (2014).

257 Andrinopoulos, K. *et al.* Evidence of the negative effect of sexual minority stigma on HIV testing among MSM and transgender women in San Salvador, El Salvador. *AIDS Behav* **19**, 60-71, doi:10.1007/s10461-014-0813-0 (2015).

258 Barrington, C. *et al.* HIV Diagnosis, Linkage to Care, and Retention among Men Who Have Sex with Men and Transgender Women in Guatemala City. *J Health Care Poor Underserved* **27**, 1745-1760, doi:10.1353/hpu.2016.0160 (2016).

259 Rhodes, S. D. *et al.* The ecology of sexual health of sexual minorities in Guatemala City. *Health Promot Int* **30**, 832-842, doi:10.1093/heapro/dau013 (2015).

260 Valenzuela-Ponce, H. *et al.* Novel HLA class I associations with HIV-1 control in a unique genetically admixed population. *Scientific Reports* **8**, 17, doi:10.1038/s41598-018-23849-7 (2018).

261 Zuniga, J. *et al.* HLA class I and class II conserved extended haplotypes and their fragments or blocks in Mexicans: implications for the study of genetic diversity in admixed populations. *PLoS One* **8**, e74442, doi:10.1371/journal.pone.0074442 (2013).

262 Gragert, L., Madbouly, A., Freeman, J. & Maiers, M. Six-locus high resolution HLA haplotype frequencies derived from mixed-resolution
DNA typing for the entire US donor registry. *Human immunology* **74**, 1313-1320, doi:10.1016/j.humimm.2013.06.025 (2013).

263 Montinaro, F. *et al.* Unravelling the hidden ancestry of American admixed populations. *Nat Commun* **6**, 6596, doi:10.1038/ncomms7596
(2015).

264 Ruiz-Linares, A. *et al.* Admixture in Latin America: geographic structure, phenotypic diversity and self-perception of ancestry based on 7,342
individuals. *PLoS Genet* **10**, e1004572, doi:10.1371/journal.pgen.1004572 (2014).

265 Silva-Zolezzi, I. *et al.* Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proceedings of
the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 8611-8616, doi:10.1073/pnas.0903045106 (2009).

266 Avila-Rios, S. *et al.* Unique features of HLA-mediated HIV evolution in a Mexican cohort: a comparative study. *Retrovirology* **6**, 72,
doi:10.1186/1742-4690-6-72 (2009).

267 Dorak, M. T. *et al.* Influence of human leukocyte antigen-B22 alleles on the course of human immunodeficiency virus type 1 infection in 3
cohorts of white men. *The Journal of infectious diseases* **188**, 856-863, doi:10.1086/378071 (2003).

268 Dean, M., Carrington, M. & O'Brien, S. J. Balanced polymorphism selected by genetic versus infectious human disease. *Annu Rev Genomics
Hum Genet* **3**, 263-292, doi:10.1146/annurev.genom.3.022502.103149 (2002).

269 Geldmacher, C. *et al.* Minor viral and host genetic polymorphisms can dramatically impact the biologic outcome of an epitope-specific CD8
T-cell response. *Blood* **114**, 1553-1562, doi:10.1182/blood-2009-02-206193 (2009).

270 Bashirova, A. A. *et al.* LILRB2 interaction with HLA class I correlates with control of HIV-1 infection. *PLoS Genet* **10**, e1004196,
doi:10.1371/journal.pgen.1004196 (2014).

271 Matthews, P. C. *et al.* Differential clade-specific HLA-B*3501 association with HIV-1 disease outcome is linked to immunogenicity of a single
Gag epitope. *Journal of virology* **86**, 12643-12654, doi:10.1128/JVI.01381-12 (2012).

272 Moore, C. B. *et al.* Evidence of HIV-1 adaptation to HLA-restricted immune responses at a population level. *Science* **296**, 1439-1443,
doi:10.1126/science.1069660 (2002).

273 Yusim, K. *et al.* Clustering patterns of cytotoxic T-lymphocyte epitopes in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) proteins reveal
imprints of immune evasion on HIV-1 global variation. *Journal of virology* **76**, 8757-8768 (2002).

274 Klooverpris, H. N., Leslie, A. & Goulder, P. Role of HLA Adaptation in HIV Evolution. *Front Immunol* **6**, 665, doi:10.3389/fimmu.2015.00665
(2015).

275 Zhai, S. *et al.* HIV-1-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses against immunodominant optimal epitopes slow the progression of
AIDS in China. *Curr HIV Res* **6**, 335-350 (2008).

276 Anuska Llano, A. W., Alex Olvera, Sandra Silva-Arrieta, Christian Brander. Optimal HIV CTL Epitope Listing: The 2013 Update. (Los Alamos
National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 2013).

277 Pereyra, F. *et al.* HIV control is mediated in part by CD8+ T-cell targeting of specific epitopes. *Journal of virology* **88**, 12937-12948,
doi:10.1128/JVI.01004-14 (2014).

278 Kiepiela, P. *et al.* CD8+ T-cell responses to different HIV proteins have discordant associations with viral load. *Nature medicine* **13**, 46-53,
doi:10.1038/nm1520 (2007).

279 Matthews, P. C. *et al.* Central role of reverting mutations in HLA associations with human immunodeficiency virus set point. *Journal of
virology* **82**, 8548-8559, doi:10.1128/JVI.00580-08 (2008).

280 Betts, M. R. *et al.* Analysis of total human immunodeficiency virus (HIV)-specific CD4(+) and CD8(+) T-cell responses: relationship to viral
load in untreated HIV infection. *Journal of virology* **75**, 11983-11991, doi:10.1128/JVI.75.24.11983-11991.2001 (2001).

281 Buseyne, F. *et al.* Inverse correlation between memory Gag-specific cytotoxic T lymphocytes and viral replication in human
immunodeficiency virus-infected children. *The Journal of infectious diseases* **186**, 1589-1596, doi:10.1086/345482 (2002).

282 Buseyne, F. *et al.* Frequencies of ex vivo-activated human immunodeficiency virus type 1-specific gamma-interferon-producing CD8+ T cells
in infected children correlate positively with plasma viral load. *Journal of virology* **76**, 12414-12422 (2002).

283 Chouquet, C. *et al.* Correlation between breadth of memory HIV-specific cytotoxic T cells, viral load and disease progression in HIV infection.
AIDS **16**, 2399-2407 (2002).

284 Dalod, M. *et al.* Broad, intense anti-human immunodeficiency virus (HIV) ex vivo CD8(+) responses in HIV type 1-infected patients:
comparison with anti-Epstein-Barr virus responses and changes during antiretroviral therapy. *Journal of virology* **73**, 7108-7116 (1999).

285 Edwards, B. H. *et al.* Magnitude of functional CD8+ T-cell responses to the gag protein of human immunodeficiency virus type 1 correlates
inversely with viral load in plasma. *Journal of virology* **76**, 2298-2305 (2002).

286 Gea-Banacloche, J. C. *et al.* Maintenance of large numbers of virus-specific CD8+ T cells in HIV-infected progressors and long-term
nonprogressors. *J Immunol* **165**, 1082-1092 (2000).

287 Novitsky, V. *et al.* Association between virus-specific T-cell responses and plasma viral load in human immunodeficiency virus type 1 subtype
C infection. *Journal of virology* **77**, 882-890 (2003).

288 Ogg, G. S. *et al.* Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* **279**, 2103-2106 (1998).

289 van Baalen, C. A. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 Rev- and Tat-specific cytotoxic T lymphocyte frequencies inversely correlate
with rapid progression to AIDS. *J Gen Virol* **78 (Pt 8)**, 1913-1918, doi:10.1099/0022-1317-78-8-1913 (1997).

290 McLaren, P. J. *et al.* Polymorphisms of large effect explain the majority of the host genetic contribution to variation of HIV-1 virus load.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **112**, 14658-14663, doi:10.1073/pnas.1514867112 (2015).

291 Klooverpris, H. N. *et al.* HIV control through a single nucleotide on the HLA-B locus. *Journal of virology* **86**, 11493-11500,
doi:10.1128/JVI.01020-12 (2012).

292 Archbold, J. K. *et al.* Natural micropolymorphism in human leukocyte antigens provides a basis for genetic control of antigen recognition.
The Journal of experimental medicine **206**, 209-219, doi:10.1084/jem.20082136 (2009).

293 Bade-Doding, C. *et al.* The impact of human leukocyte antigen (HLA) micropolymorphism on ligand specificity within the *HLA-B*41* allotypic
family. *Haematologica* **96**, 110-118, doi:10.3324/haematol.2010.030924 (2011).

294 Burrows, J. M. *et al.* The impact of *HLA-B* micropolymorphism outside primary peptide anchor pockets on the CTL response to CMV. *Eur J*
Immunol **37**, 946-953, doi:10.1002/eji.200636588 (2007).

295 Green, K. J. *et al.* Potent T cell response to a class I-binding 13-mer viral epitope and the influence of HLA micropolymorphism in controlling
epitope length. *Eur J Immunol* **34**, 2510-2519, doi:10.1002/eji.200425193 (2004).

296 Macdonald, W. A. *et al.* A naturally selected dimorphism within the *HLA-B44* supertype alters class I structure, peptide repertoire, and T
cell recognition. *The Journal of experimental medicine* **198**, 679-691, doi:10.1084/jem.20030066 (2003).

297 Zernich, D. *et al.* Natural HLA class I polymorphism controls the pathway of antigen presentation and susceptibility to viral evasion. *The*
Journal of experimental medicine **200**, 13-24, doi:10.1084/jem.20031680 (2004).

298 Klein, M. R. *et al.* Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal
analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *The Journal of experimental medicine* **181**, 1365-1372 (1995).

299 Riviere, Y. *et al.* Gag-specific cytotoxic responses to HIV type 1 are associated with a decreased risk of progression to AIDS-related complex
or AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11**, 903-907 (1995).

300 Zuniga, R. *et al.* Relative dominance of Gag p24-specific cytotoxic T lymphocytes is associated with human immunodeficiency virus control.
Journal of virology **80**, 3122-3125, doi:10.1128/JVI.80.6.3122-3125.2006 (2006).

301 Kimura, A., Kitamura, H., Date, Y. & Numano, F. Comprehensive analysis of HLA genes in Takayasu arteritis in Japan. *Int J Cardiol* **54 Suppl**,
S61-69 (1996).

302 Kimura, A. *et al.* Mapping of the HLA-linked genes controlling the susceptibility to Takayasu's arteritis. *Int J Cardiol* **75 Suppl 1**, S105-110;
discussion S111-102 (2000).

303 Kitamura, H., Kobayashi, Y., Kimura, A. & Numano, F. Association of clinical manifestations with *HLA-B* alleles in Takayasu arteritis. *Int J*
Cardiol **66 Suppl 1**, S121-126 (1998).

304 Renauer, P. & Sawalha, A. H. The genetics of Takayasu arteritis. *Presse Med* **46**, e179-e187, doi:10.1016/j.lpm.2016.11.031 (2017).

305 Vargas-Alarcon, G. *et al.* Comparative study of the residues 63 and 67 on the *HLA-B* molecule in patients with Takayasu's Arteritis. *Immunol*
Lett **96**, 225-229, doi:10.1016/j.imlet.2004.08.009 (2005).

306 Yoshida, M., Kimura, A., Katsuragi, K., Numano, F. & Sasazuki, T. DNA typing of *HLA-B* gene in Takayasu's arteritis. *Tissue antigens* **42**, 87-
90 (1993).

307 Yamaguchi, A. *et al.* Association of *HLA-B39* with *HLA-B27*-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis
in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* **38**, 1672-1677 (1995).

308 Cortes, A. *et al.* Major histocompatibility complex associations of ankylosing spondylitis are complex and involve further epistasis with
ERAP1. *Nat Commun* **6**, 7146, doi:10.1038/ncomms8146 (2015).

309 Chen, H. *et al.* Psoriasis patients are enriched for genetic variants that protect against HIV-1 disease. *PLoS Genet* **8**, e1002514,
doi:10.1371/journal.pgen.1002514 (2012).

310 Matzaraki, V., Kumar, V., Wijmenga, C. & Zernakova, A. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases.
Genome Biol **18**, 76, doi:10.1186/s13059-017-1207-1 (2017).

311 Juarez-Molina, C. I. *et al.* Impact of *HLA-B*35* subtype differences on HIV disease outcome in Mexico. *AIDS* **28**, 1687-1690,
doi:10.1097/QAD.0000000000000322 (2014).

312 Dawkins, R. *et al.* Genomics of the major histocompatibility complex: haplotypes, duplication, retroviruses and disease. *Immunol Rev* **167**,
275-304 (1999).

313 Yunis, E. J. *et al.* Inheritable variable sizes of DNA stretches in the human MHC: conserved extended haplotypes and their fragments or
blocks. *Tissue antigens* **62**, 1-20 (2003).

314 Romero, V. *et al.* Genetic fixity in the human major histocompatibility complex and block size diversity in the class I region including HLA-E.
BMC Genet **8**, 14, doi:10.1186/1471-2156-8-14 (2007).

315 Dolan, M. J. *et al.* CCL3L1 and CCR5 influence cell-mediated immunity and affect HIV-AIDS pathogenesis via viral entry-independent
mechanisms. *Nat Immunol* **8**, 1324-1336, doi:10.1038/ni1521 (2007).

316 Smith, M. W. *et al.* Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression. Hemophilia Growth
and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City
Cohort (SFCC), ALIVE Study. *Science* **277**, 959-965 (1997).

317 Brander, C. & Riviere, Y. Early and late cytotoxic T lymphocyte responses in HIV infection. *AIDS* **16 Suppl 4**, S97-103 (2002).

318 Gao, Y., McKay, P. F. & Mann, J. F. S. Advances in HIV-1 Vaccine Development. *Viruses* **10**, doi:10.3390/v10040167 (2018).

319 McMichael, A., Mwau, M. & Hanke, T. Design and tests of an HIV vaccine. *Br Med Bull* **62**, 87-98 (2002).

320 Walker, B. D. *et al.* HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in seropositive individuals. *Nature* **328**, 345-348, doi:10.1038/328345a0 (1987).

11. APÉNDICES

11.1 Miembros del Grupo del Proyecto Mesoamericano de VIH

Las siguientes personas forman parte del grupo de investigación del Proyecto de VIH Mesoamericano, que es un estudio internacional multicéntrico de corte transversal para evaluar la epidemiología molecular del VIH, la prevalencia de la resistencia a los medicamentos antirretrovirales y la adaptación del virus a las variantes de HLA en Mesoamérica (el orden de aparición en la lista representa la contribución de cada persona en la presente tesis doctoral):

Humberto Valenzuela-Ponce¹, Santiago Ávila-Ríos¹, Gustavo Reyes-Terán¹ (tutor principal de HVP, director del Grupo del Proyecto Mesoamericano de VIH y jefe del CIENI), Selma Alva-Hernández¹, Daniela Garrido-Rodríguez¹, Maribel Soto-Nava¹, Thalía García-Téllez¹, Tania Escamilla-Gómez¹, Claudia García-Morales¹, Verónica Sonia Quiroz-Morales¹, Daniela Tapia-Trejo¹, Silvia del Arenal-Sánchez¹, Javier Prado-Galbarro¹, Ramón Hernández-Juan¹, Edna Rodríguez-Aguirre¹, Akio Murakami-Ogasawara¹, Carlos Mejía-Villatoro², Ingrid Y. Escobar-Urias², Rodolfo Pinzón-Meza², Juan Miguel Pascale³, Yamitzel Zaldivar³, Guillermo Porras-Cortés⁴, Carlos Quant-Durán⁵, Ivette Lorenzana⁶, Rita I. Meza⁷, Elsa Y. Palou⁸, Marvin Manzanero⁹, Rolando A. Cedillos¹⁰, Carmen Aláez¹¹, Mark A. Brockman^{12,13}, P. Richard Harrigan¹³, Chanson J. Brumme¹³, Zabrina L. Brumme^{12,13}.

Otras personas que forman parte del Proyecto de VIH Mesoamericano y que participaron reclutando a los sujetos participantes en los estados de México y en los países de Centroamérica, aplicaron cuestionarios demográficos y clínicos, y gestionaron el envío de muestras sanguíneas: Karla A. Romero-Mora¹, María Gómez-Palacio¹, Sabrina Navas², Leticia García², Cristina Quintana², Yaxelis Mendoza³, Sumaya Moreira⁵, Bismarck Hernández⁵, Wendy Murillo⁶, Candy Carbajal⁶, Leda Parham⁶, Diana Valladares¹⁴, Luisa Pineda¹⁴, Dixiana Flores¹⁵, Roxana Motiño¹⁵, Víctor Umanzor¹⁶, Oneyda Méndez¹⁶, Nadina Romero¹⁶, Jonahi Lizama⁹, María L. Méndez¹⁷, David de los Santos Cebrero¹⁷, César Rivera-Benitez¹⁸, Juan Sierra-Madero¹⁹, Audelia Alanis-Vega¹⁹, Luz A. González-Hernández²⁰, Jaime Andrade-Villanueva²⁰, Jaime Álvarez-Zayas²¹, Héctor Carrillo-Martínez²², José L. Centeno²³, Everardo Barreto²⁴, Tanya Campos²⁴, Jesús Oaxaca-Navarro²⁵, Ricardo Aya de la Fuente²⁶, César A. Carrasco-Ayala²⁷, Lesvia M. Rivera-Abarca²⁷, Gabriela Velázquez²⁷, Elizabeth Papaqui-Limón²⁸, Indiana Torres-Escobar²⁸, María J. del Carmen-Ricalde²⁹, David Valenzo-Loeza²⁹, Carlos A. Barrera-Arellano²⁹, Adrián Flores-Gaxiola³⁰, Carlos A. Avilez-Gaxiola³¹, Adonay Jiménez-Jiménez³², Juan Beltrán-Saldaña³³, Arturo Artega-Martínez³⁴, Elizabeth Domínguez-Ramírez³⁵, Jorge M. de la Roca-Chiapas³⁶, Miriam J. García-Collins³⁷, Hilda Basilio-Badillo³⁷, Dulce M. Cruz-Lavadores³⁸, Carlos R. González-Álvarez³⁸, Luis E. Arias-Tlaculio³⁹, and Samuel Navarro-Álvarez⁴⁰.

Afiliaciones:

¹Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”, CIENI Centro de Investigación en Enfermedades Respiratorias, Ciudad de México, México.

²Hospital Roosevelt, Clínica de Enfermedades Infecciosas, Ciudad de Guatemala, Guatemala.

³Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Ciudad de Panamá, Panamá.

⁴Hospital Vivian Pellas, Managua, Nicaragua.

⁵Hospital Roberto Calderón, Managua, Nicaragua.

⁶Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras.

⁷Honduras HIV National Laboratory, Tegucigalpa, Honduras.

⁸Hospital Escuela Universitario, Tegucigalpa, Honduras.

⁹Ministry of Health, Belmopan, Belice.

¹⁰Hospital Nacional Rosales, San Salvador, El Salvador.

¹¹Intituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), Laboratorio de Medicina Traduccional, Ciudad de México, México.

¹²Simon Fraser University, Faculty of Health Sciences, Burnaby, Canadá.

¹³British Columbia Centre for Excellence in HIV/ AIDS, Vancouver, Canadá.

¹⁴Mario Catarino Rivas Hospital, San Pedro Sula, Honduras.

- ¹⁵Hospital Atlántida, La Ceiba, Honduras.
- ¹⁶Hospital del Sur, Choluteca, Honduras.
- ¹⁷CAPASITS Acapulco, Guerrero, México.
- ¹⁸Hospital General, Ciudad de México, México.
- ¹⁹Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Ciudad de México, México.
- ²⁰Hospital Civil Fray Antonio Alcalde, Guadalajara, México.
- ²¹CAPASITS Puerto Vallarta, Jalisco, México.
- ²²CAPASITS Nezahualcóyotl, Estado de México, México.
- ²³CAPASITS Tlalnepantla, Estado de México, México.
- ²⁴CAPASITS Tlalnepantla, Estado de México, México.
- ²⁵CAPASITS Cuernavaca, Morelos, México.
- ²⁶CAPASITS Monterrey, Nuevo León, México.
- ²⁷SEAI Oaxaca, Oaxaca, México.
- ²⁸CAPASITS Puebla, Puebla, México.
- ²⁹CAPASITS Cancún, Quintana Roo, México.
- ³⁰CAPASITS Culiacán, Sinaloa, México.
- ³¹CAPASITS Hermosillo, Sonora, México.
- ³²Dr Juan Graham Casusus Hospital, Tabasco, México.
- ³³CAPASITS Tampico, Tamaulipas, México.
- ³⁴Hospital General, Veracruz, México.
- ³⁵Hospital Subregional (Coatzacoalcos), Veracruz, México.
- ³⁶Hospital Subregional (Río Blanco), Veracruz, México.
- ³⁷Hospital Subregional (Poza Rica), Veracruz, México.
- ³⁸CAPASITS Mérida, Yucatán, México.
- ³⁹CAPASITS Valladolid, Yucatán, México.
- ⁴⁰Hospital General Tijuana, Baja California, México.

11.2 Declaración de las contribuciones de cada autor para esta tesis doctoral

Concibieron y diseñaron los experimentos: HVP, SAR, CJB, ZLB y GRT. Reclutaron a los sujetos participantes en los estados de México y en los países de Centroamérica, aplicaron cuestionarios demográficos y clínicos, y gestionaron el envío de muestras sanguíneas: CGM, DTT, AMO, CMV, IYEU, RPM, JMP, YZ, GPC, CQD, IL, RIM, EYP, MM, RAC. Cohorte de referencia HOMER: PRH, ZLB, MAB, CJB. Separación de *PBMCs*, *buffy coats*, extracción de DNA genómico, y secuenciación HLA y análisis para la asignación de alelos HLA: HVP, SAH, DGR, MSN, TGT, TEG, VSQM, SAS, CA. Carga viral plasmática de VIH y conteos de células por citometría de flujo: ERA, RHJ. Administraron bases de datos clínicos, demográficos y HLA de la cohorte MEX/CAM: HVP, DTT, CGM. Analizaron los datos: HVP, SAH, JPG, CJB. Escribió esta tesis doctoral: HVP. Autores que contribuyeron a la revisión crítica, y leyeron y aprobaron la versión final de esta tesis doctoral: SAR y GRT.

11.3 Publicación de resultados en artículos científicos

Resultados parciales o análisis obtenidos de la base de datos HLA de clase I de los 3213 individuos de la cohorte MEX/CAM obtenidos en el presente trabajo doctoral fueron publicados en los siguientes artículos científicos:

- 2012, **Differential clade-specific HLA-B*3501 association with HIV-1 disease outcome is linked to immunogeneticity of a single Gag epitope**. ISSN: 1098-5514. doi: 10.1128/JVI.01381-12., Matthews PC, Koyanagi M, Kløverpris HN, Harndahl M, Stryhn A, Akahoshi T,

Gatanaga H, Oka S, Juarez Molina C, Valenzuela Ponce H, Avila Rios S, Cole D, Carlson J, Payne RP, Ogwu A, Bere A, Ndung'u T, Gounder K, Chen F, Riddell L, Luzzi G, Shapiro R, Brander C, Walker B, Sewell AK, Reyes Teran G, Heckerman D, Hunter E, Buus S, Takiguchi M, Goulder PJ., *Journal of Virology*, Vol.86, Pag.12643- 12654.

- 2014, **Impact of HLA-B*35 subtype differences on HIV disease outcome in Mexico.** ISSN: 0269- 9370, ONLINE ISSN: 1473-5571. doi: 10.1097/QAD.0000000000000322., Valenzuela-Ponce Humberto, Juarez-Molina Claudia, Avila-Rios Santiago, Garrido-Rodriguez Daniela, Garcia-Tellez Thalía, Soto-Nava Maribel, Garcia-Morales Claudia, Goulder Phillip, Reyes-Teran Gustavo, **AIDS**, Vol.28, Pag.1687-1690.
- 2014, **Impact of HLA selection pressure on HIV fitness at a population level in Mexico and Barbados.** ISSN: 1098-5514. doi: 10.1128/JVI.01162-14, Claudial Juárez-Molina, Rebecca Payne, Maribel Soto-Nava, Santiago Ávila-Ríos, Humberto Valenzuela-Ponce, Emily Adland, Ellen Leitman, Jacqui Brener, Maximilian Muenchhoff, Songee Branch, Clive Landis, Gustavo Reyes-Terán, Phillip Goulder, **Journal of Virology**, Vol.88, Pag.10392-10398.
- 2016, **Identification of Immunogenic Cytotoxic T Lymphocyte Epitopes Containing Drug Resistance Mutations in Antiretroviral Treatment-Naïve HIV-Infected Individuals.** eISSN-1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0147571, Juan Blanco-Heredia, Aarón Lecanda, Humberto Valenzuela- Ponce, Christian Brander, Santiago Ávila-Ríos , Gustavo Reyes-Terán, **PLOS ONE**, Vol.11, Pag.0-0.
- 2016, **Killer cell immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen gene profiles in a cohort of HIV-infected Mexican Mestizos,** doi: 10.1007/s00251-016-0920-3., Garrido-Rodríguez Daniela, Ávila-Ríos Santiago, García-Morales Claudia, Valenzuela-Ponce Humberto, Ormsby Christopher, Reyes-Gopar Helena, Fernandez-Lopez JC, Reyes-Terán Gustavo. **Immunogenetics**, Oct;68, Vol. 9, Pag 703-717.
- 2017, **Potential for immune-driven viral polymorphisms to compromise antiretroviral-based preexposure prophylaxis for prevention of HIV-1 infection,** doi: 10.1097/QAD.0000000000001575., Gatanaga H, Brumme ZL, Adland E, Reyes-Terán G, Avila-Rios S, Mejía-Villatoro CR, Hayashida T, Chikata T, Van Tran G, Van Nguyen K, Meza RI, Palou EY, Valenzuela-Ponce H, Pascale JM, Porras-Cortés G, Manzanero M, Lee GQ, Martin JN, Carrington MN, John M, Mallal S, Poon AFY, Goulder P, Takiguchi M, Oka S; International HIV Adaptation Collaborative. **AIDS**. 2017 Sep 10;31(14):1935-1943.
- 2017, **DIFFERENTIAL IMMUNODOMINANCE HIERARCHY OF CD8+ T CELL RESPONSES IN HLA-B*27:05 AND B*27:02-MEDIATED CONTROL OF HIV-1 INFECTION,** doi: 10.1128/JVI.01685-17., Adland E, Hill M, Lavandier N, Csala A, Edwards A, Chen F, Radkowski M, Kowalska JD, Paraskevis D, Hatzakis A, Valenzuela-Ponce H, Pfafferoth K, Williams I, Pellegrino P, Borrow P, Mori M, Rockstroh J, Prado JG, Mothe B, Dalmau J, Martinez-Picado J, Tudor-Williams G, Frater J, Stryhn A, Buus S, Reyes Teran G, Mallal S, John M, Buchbinder S, Kirk G, Martin J, Michael N, Fellay J, Deeks S, Walker B, Avila-Rios S, Cole D, Brander C, Carrington M, Goulder P., **Journal of Virology**. 2017 Nov 22. pii: JVI.01685-17.
- 2018, **Weaker HLA Footprints on HIV in the Unique and Highly Genetically Admixed Host Population of Mexico,** doi: 10.1128/JVI.01128-17., Soto-Nava M, Avila-Ríos S, Valenzuela-Ponce H, García-Morales C, Carlson JM, Tapia-Trejo D, Garrido-Rodriguez D, Alva-Hernández SN, García-Tellez TA, Murakami-Ogasawara A; International HIV Adaptation Collaborative, Mallal SA, John M, Brockman MA, Brumme CJ, Brumme ZL, Reyes-Teran G; HIV MexNet Group. **Journal of Virology**. 2018 Jan 2;92(2). pii: e01128-17.
- 2018, **Novel HLA class I associations with HIV-1 control in a unique genetically admixed population.** Humberto Valenzuela-Ponce, Selma Alva-Hernández, Daniela Garrido-Rodríguez, Maribel Soto-Nava, Thalía García-Téllez, Tania Escamilla-Gómez, Claudia García-Morales, Verónica Sonia Quiroz-Morales, Daniela Tapia-Trejo, Silvia del Arenal-Sánchez, Francisco-Javier Prado-Galbarro, Ramón Hernández-Juan, Edna Rodríguez-Aguirre, Akio Murakami-Ogasawara, Carlos Mejía-Villatoro, Ingrid Y. Escobar-Urias, Rodolfo Pinzón-Meza, Juan Miguel Pascale, Yamitzel Zaldivar, Guillermo Porras-Córtes, Carlos Quant-Durán, Ivette Lorenzana, Rita Isabel Meza, Elsa Yolanda Palou, Marvin Manzanero, Rolando A. Cedillos, Carmen Aláez, Mark Brockman, P. Richard Harrigan, Chanson Brumme, Zabrina Brumme, Santiago Ávila-Ríos, Gustavo Reyes-Terán on behalf of the Mesoamerican HIV Project Group. **Scientific Reports** 8, 1 (1-17) DOI: 10.1038/s41598-018-23849-7.

11.4 Tablas Suplementarias

Tabla Suplementaria S 1. Lista de ambigüedades HLA por falta de resolución de fase gamética.

Las asignaciones ambiguas HLA pueden surgir debido a la falta de resolución de fase gamética como resultado de la secuenciación poblacional de dos variantes en los productos de PCR. Considerando sólo las ambigüedades HLA que afectan el primer (grupo alélico) y el segundo campo HLA (subtipo específico) y que incluían dos alelos comunes o un alelo común y un alelo bien documentado del catálogo de alelos HLA comunes y bien documentados (*Common and Well-documented catalogue*), un total de 142 pares del *HLA-A*, 161 de *HLA-B* y 104 de *HLA-C* resultaron ambiguos dada la falta de resolución de fase. Dichas ambigüedades HLA fueron resueltas al asignar la combinación más probable utilizando datos de las frecuencias alélicas HLA, así como los desequilibrios de ligamiento de los alelos HLA de la misma cohorte de estudio. Todos los haplotipos HLA fueron confirmados utilizando la herramienta *HLA completion* (ver Métodos, sección tipificación HLA).

| Ambigüedad en <i>HLA-A</i> | Frecuencia | % |
|--|------------|------------|
| <i>A*02:01+A*68:01/A*02:22+A*68:08</i> | 80 | 56.34 |
| <i>A*02:01+A*03:01/A*02:24+A*03:17</i> | 56 | 39.44 |
| <i>A*02:01+A*66:01/A*02:35+A*26:03</i> | 4 | 2.82 |
| <i>A*02:01+A*31:01/A*02:20+A*31:02</i> | 1 | 0.7 |
| <i>A*26:03+A*68:01/A*66:01+A*68:05</i> | 1 | 0.7 |
| Total | 142 | 100 |
| Ambigüedad en <i>HLA-B</i> | Frequency | Percent |
| <i>B*15:01+B*35:01/B*15:05+B*35:14</i> | 21 | 13.04 |
| <i>B*35:01+B*51:01/B*35:11+B*51:09/B*35:24+B*51:02/B*53:01+B*78:02</i> | 20 | 12.42 |
| <i>B*35:01+B*38:01/B*39:05+B*53:01</i> | 15 | 9.32 |
| <i>B*15:01+B*40:02/B*15:07+B*40:11</i> | 14 | 8.7 |
| <i>B*38:01+B*78:02/B*39:05+B*51:01</i> | 13 | 8.07 |
| <i>B*35:01+B*35:43/B*35:14+B*35:32</i> | 12 | 7.45 |
| <i>B*39:01+B*39:13/B*39:02+B*39:05</i> | 10 | 6.21 |
| <i>B*15:01+B*51:01/B*15:38+B*51:02</i> | 9 | 5.59 |
| <i>B*35:01+B*39:01/B*35:29+B*39:05</i> | 9 | 5.59 |
| <i>B*35:01+B*49:01/B*50:01+B*53:01</i> | 6 | 3.73 |
| <i>B*38:01+B*50:01/B*39:05+B*49:01</i> | 4 | 2.48 |
| <i>B*15:01+B*48:01/B*15:07+B*48:03</i> | 3 | 1.86 |
| <i>B*35:01+B*55:01/B*35:11+B*55:02</i> | 3 | 1.86 |
| <i>B*15:01+B*39:03/B*15:07+B*39:01</i> | 2 | 1.24 |
| <i>B*15:01+B*39:39/B*15:15+B*39:02</i> | 2 | 1.24 |
| <i>B*35:29+B*38:01/B*39:01+B*53:01</i> | 2 | 1.24 |
| <i>B*38:01+B*78:01/B*39:01+B*51:01/B*39:06+B*51:06</i> | 2 | 1.24 |
| <i>B*07:02+B*15:09/B*07:05+B*15:10</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*15:01+B*35:04/B*15:30+B*35:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*15:01+B*35:11/B*15:39+B*35:14</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*15:01+B*41:02/B*15:07+B*41:03</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*15:02+B*52:01/B*15:25+B*51:07</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*15:02+B*53:01/B*15:13+B*35:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*15:03+B*39:01/B*15:18+B*39:02</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*18:01+B*35:29/B*18:03+B*35:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*35:01+B*39:11/B*35:08+B*39:05</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*35:01+B*44:18/B*45:01+B*53:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*35:01+B*57:03/B*35:04+B*57:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*39:01+B*78:02/B*39:05+B*78:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*40:01+B*42:01/B*41:03+B*81:01</i> | 1 | 0.62 |
| <i>B*51:01+B*53:17/B*52:01+B*53:01</i> | 1 | 0.62 |
| Total | 161 | 100 |
| Ambigüedad en <i>HLA-C</i> | Frequency | Percent |
| <i>C*03:03+C*07:02/C*03:04+C*07:56</i> | 33 | 31.73 |
| <i>C*02:02+C*04:01/C*02:10+C*04:01</i> | 14 | 13.46 |
| <i>C*05:01+C*16:01/C*08:02+C*16:02</i> | 10 | 9.62 |
| <i>C*02:02+C*07:01/C*02:02+C*07:01/C*02:10+C*07:01</i> | 8 | 7.69 |
| <i>C*05:01+C*12:03/C*08:02+C*12:04</i> | 7 | 6.73 |

| | | |
|--|-----|------|
| <i>C*02:02+C*06:02/C*02:10+C*06:02</i> | 5 | 4.81 |
| <i>C*02:02+C*07:02/C*02:10+C*07:02</i> | 5 | 4.81 |
| <i>C*01:02+C*02:10/C*01:02+C*02:02</i> | 3 | 2.88 |
| <i>C*02:02+C*03:04/C*02:10+C*03:04</i> | 3 | 2.88 |
| <i>C*03:04+C*15:09/C*03:40+C*15:06</i> | 3 | 2.88 |
| <i>C*02:02+C*03:02/C*02:10+C*03:02</i> | 2 | 1.92 |
| <i>C*02:02+C*03:03/C*02:10+C*03:03</i> | 2 | 1.92 |
| <i>C*02:02+C*05:01/C*02:10+C*05:01</i> | 2 | 1.92 |
| <i>C*02:02+C*02:02/C*02:02+C*02:10</i> | 1 | 0.96 |
| <i>C*02:02+C*12:02/C*02:10+C*12:02</i> | 1 | 0.96 |
| <i>C*02:02+C*14:02/C*02:10+C*14:02</i> | 1 | 0.96 |
| <i>C*02:02+C*15:05/C*02:10+C*15:05</i> | 1 | 0.96 |
| <i>C*02:02+C*17:01/C*02:10+C*17:01</i> | 1 | 0.96 |
| <i>C*04:01+C*08:04/C*04:04+C*08:02</i> | 1 | 0.96 |
| <i>C*12:03+C*16:02/C*12:04+C*16:01</i> | 1 | 0.96 |
| Total | 104 | 100 |

Tabla Suplementaria S 2. Desequilibrio de ligamiento HLA de 2-loci en la cohorte MEX.

Títulos de columnas: Ambos, número de individuos que expresan tanto HLA1 como HLA2; Sólo HLA1, número de individuos que expresan HLA1, pero no HLA2; Sólo HLA2, número de individuos que expresan HLA2, pero no HLA1; Ninguno, número de individuos que no expresan HLA1 ni HLA2; P (HLA1), frecuencia observada de individuos con HLA1 en la población; P (HLA2), frecuencia observada de individuos con HLA2 en la población; P (HLA1 y HLA2), frecuencia observada de individuos con HLA1 y HLA2 en la población; E (P (HLA1 y HLA2)), frecuencia esperada de P (HLA1 y HLA2) si P (HLA1) y P (HLA2) son independientes [E(P(HLA1 y HLA2)) = P(HLA1) * P(HLA2)]. Valor p, valor p exacto de exacta de Fisher de dos colas. Esta es una estimación de la probabilidad de que P(HLA1) y P(HLA2) son independientes, dado los datos observados. Un pequeño valor de p indica que la ocurrencia de HLA1 y HLA2 está vinculada a la población. La matriz de contingencia es [[ambos, sóloHLA1], [soloHLA2], [ninguno]]. Múltiples comparaciones fueron abordadas por la corrección de Bonferroni. Basado en estadísticas de poblaciones: número de pruebas bidireccionales distintas realizadas = N2 = 12970. P-valor = 0.05 / N2 = 3.855e-06 para un nivel de confianza del 95%. Se muestran resultados con valores p inferiores a 3.855e-06.

| HLA1 | HLA2 | Frecuencia Poblacional | Valor p | Ambos | Sólo HLA1 | Sólo HLA2 | Ninguno | P(HLA1) | P(HLA2) | P(HLA1 & HLA2) | E(P(HLA1 & HLA2)) |
|----------------|----------------|------------------------|----------|-------|-----------|-----------|---------|---------|---------|----------------|-------------------|
| <i>B*39:05</i> | <i>C*07:02</i> | 0.1303 | 4.6E-97 | 223 | 12 | 383 | 1094 | 0.1373 | 0.354 | 0.1303 | 0.0486 |
| <i>B*35:01</i> | <i>C*04:01</i> | 0.1221 | 4.8E-57 | 209 | 57 | 390 | 1056 | 0.1554 | 0.3499 | 0.1221 | 0.0544 |
| <i>B*35:12</i> | <i>C*04:01</i> | 0.0835 | 9.2E-60 | 143 | 8 | 456 | 1105 | 0.0882 | 0.3499 | 0.0835 | 0.0309 |
| <i>A*68:03</i> | <i>C*07:02</i> | 0.0783 | 8.7E-32 | 134 | 41 | 472 | 1065 | 0.1022 | 0.354 | 0.0783 | 0.0362 |
| <i>B*07:02</i> | <i>C*07:02</i> | 0.0643 | 6.7E-41 | 110 | 10 | 496 | 1096 | 0.0701 | 0.354 | 0.0643 | 0.0248 |
| <i>B*39:06</i> | <i>C*07:02</i> | 0.0625 | 2.1E-43 | 107 | 6 | 499 | 1100 | 0.066 | 0.354 | 0.0625 | 0.0234 |
| <i>A*68:03</i> | <i>B*39:05</i> | 0.0596 | 5.2E-51 | 102 | 73 | 133 | 1404 | 0.1022 | 0.1373 | 0.0596 | 0.014 |
| <i>B*48:01</i> | <i>C*08:01</i> | 0.0572 | 1.4E-107 | 98 | 13 | 47 | 1554 | 0.0648 | 0.0847 | 0.0572 | 0.0055 |
| <i>A*02:01</i> | <i>B*35:12</i> | 0.0561 | 1.4E-10 | 96 | 568 | 55 | 993 | 0.3879 | 0.0882 | 0.0561 | 0.0342 |
| <i>B*35:17</i> | <i>C*04:01</i> | 0.0555 | 2.2E-40 | 95 | 4 | 504 | 1109 | 0.0578 | 0.3499 | 0.0555 | 0.0202 |
| <i>B*40:02</i> | <i>C*03:04</i> | 0.0555 | 1.1E-36 | 95 | 102 | 143 | 1372 | 0.1151 | 0.139 | 0.0555 | 0.016 |
| <i>B*14:02</i> | <i>C*08:02</i> | 0.0520 | 2.9E-101 | 89 | 11 | 45 | 1567 | 0.0584 | 0.0783 | 0.052 | 0.0046 |
| <i>A*24:02</i> | <i>B*39:06</i> | 0.0467 | 5.4E-23 | 80 | 394 | 33 | 1205 | 0.2769 | 0.066 | 0.0467 | 0.0183 |
| <i>A*02:06</i> | <i>B*39:05</i> | 0.0415 | 1.5E-07 | 71 | 227 | 164 | 1250 | 0.1741 | 0.1373 | 0.0415 | 0.0239 |
| <i>A*68:01</i> | <i>C*03:04</i> | 0.0403 | 5.3E-12 | 69 | 161 | 169 | 1313 | 0.1343 | 0.139 | 0.0403 | 0.0187 |
| <i>B*15:01</i> | <i>C*01:02</i> | 0.0386 | 4.3E-34 | 66 | 47 | 150 | 1449 | 0.066 | 0.1262 | 0.0386 | 0.0083 |
| <i>B*39:01</i> | <i>C*07:02</i> | 0.0386 | 1.6E-16 | 66 | 18 | 540 | 1088 | 0.0491 | 0.354 | 0.0386 | 0.0174 |
| <i>B*44:03</i> | <i>C*16:01</i> | 0.0362 | 2.7E-58 | 62 | 46 | 35 | 1569 | 0.0631 | 0.0567 | 0.0362 | 0.0036 |
| <i>B*15:15</i> | <i>C*01:02</i> | 0.0356 | 2.0E-51 | 61 | 6 | 155 | 1490 | 0.0391 | 0.1262 | 0.0356 | 0.0049 |
| <i>B*08:01</i> | <i>C*07:01</i> | 0.0350 | 4.5E-50 | 60 | 7 | 152 | 1493 | 0.0391 | 0.1238 | 0.035 | 0.0048 |
| <i>B*51:01</i> | <i>C*15:02</i> | 0.0333 | 4.9E-43 | 57 | 107 | 25 | 1523 | 0.0958 | 0.0479 | 0.0333 | 0.0046 |
| <i>A*01:01</i> | <i>C*07:01</i> | 0.0327 | 5.7E-17 | 56 | 93 | 156 | 1407 | 0.087 | 0.1238 | 0.0327 | 0.0108 |

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|----|-----|-----|------|--------|--------|--------|--------|
| B*39:02 | C*07:02 | 0.0327 | 7.5E-15 | 56 | 14 | 550 | 1092 | 0.0409 | 0.354 | 0.0327 | 0.0145 |
| A*02:01 | B*15:15 | 0.0310 | 1.0E-11 | 53 | 611 | 14 | 1034 | 0.3879 | 0.0391 | 0.031 | 0.0152 |
| B*52:01 | C*03:03 | 0.0280 | 2.6E-37 | 48 | 37 | 71 | 1556 | 0.0496 | 0.0695 | 0.028 | 0.0035 |
| B*44:02 | C*05:01 | 0.0263 | 3.8E-51 | 45 | 11 | 51 | 1605 | 0.0327 | 0.0561 | 0.0263 | 0.0018 |
| A*29:02 | C*16:01 | 0.0251 | 1.2E-39 | 43 | 28 | 54 | 1587 | 0.0415 | 0.0567 | 0.0251 | 0.0023 |
| B*40:02 | C*03:05 | 0.0251 | 1.2E-29 | 43 | 154 | 16 | 1499 | 0.1151 | 0.0345 | 0.0251 | 0.004 |
| A*33:01 | C*08:02 | 0.0239 | 1.5E-36 | 41 | 14 | 93 | 1564 | 0.0321 | 0.0783 | 0.0239 | 0.0025 |
| A*29:02 | B*44:03 | 0.0239 | 4.5E-34 | 41 | 30 | 67 | 1574 | 0.0415 | 0.0631 | 0.0239 | 0.0026 |
| B*13:02 | C*06:02 | 0.0222 | 7.9E-45 | 38 | 0 | 98 | 1576 | 0.0222 | 0.0794 | 0.0222 | 0.0018 |
| B*38:01 | C*12:03 | 0.0222 | 7.3E-41 | 38 | 14 | 53 | 1607 | 0.0304 | 0.0532 | 0.0222 | 0.0016 |
| A*33:01 | B*14:02 | 0.0216 | 1.2E-35 | 37 | 18 | 63 | 1594 | 0.0321 | 0.0584 | 0.0216 | 0.0019 |
| A*03:01 | B*07:02 | 0.0216 | 1.1E-14 | 37 | 99 | 83 | 1493 | 0.0794 | 0.0701 | 0.0216 | 0.0056 |
| B*49:01 | C*07:01 | 0.0210 | 8.1E-30 | 36 | 4 | 176 | 1496 | 0.0234 | 0.1238 | 0.021 | 0.0029 |
| B*53:01 | C*04:01 | 0.0210 | 5.4E-09 | 36 | 11 | 563 | 1102 | 0.0275 | 0.3499 | 0.021 | 0.0096 |
| B*15:01 | C*03:03 | 0.0204 | 5.7E-16 | 35 | 78 | 84 | 1515 | 0.066 | 0.0695 | 0.0204 | 0.0046 |
| A*24:02 | C*03:05 | 0.0199 | 9.4E-07 | 34 | 440 | 25 | 1213 | 0.2769 | 0.0345 | 0.0199 | 0.0095 |
| A*30:01 | C*06:02 | 0.0187 | 2.4E-19 | 32 | 35 | 104 | 1541 | 0.0391 | 0.0794 | 0.0187 | 0.0031 |
| A*01:01 | C*06:02 | 0.0187 | 3.3E-08 | 32 | 117 | 104 | 1459 | 0.087 | 0.0794 | 0.0187 | 0.0069 |
| B*14:01 | C*08:02 | 0.0181 | 5.8E-29 | 31 | 8 | 103 | 1570 | 0.0228 | 0.0783 | 0.0181 | 0.0018 |
| B*35:02 | C*04:01 | 0.0181 | 4.3E-15 | 31 | 0 | 568 | 1113 | 0.0181 | 0.3499 | 0.0181 | 0.0063 |
| B*35:14 | C*04:01 | 0.0175 | 2.9E-12 | 30 | 2 | 569 | 1111 | 0.0187 | 0.3499 | 0.0175 | 0.0065 |
| B*27:05 | C*02:02 | 0.0169 | 3.4E-32 | 29 | 15 | 43 | 1625 | 0.0257 | 0.0421 | 0.0169 | 0.0011 |
| B*35:43 | C*01:02 | 0.0164 | 3.5E-25 | 28 | 1 | 188 | 1495 | 0.0169 | 0.1262 | 0.0164 | 0.0021 |
| B*18:01 | C*05:01 | 0.0164 | 2.9E-19 | 28 | 40 | 68 | 1576 | 0.0397 | 0.0561 | 0.0164 | 0.0022 |
| A*01:01 | B*08:01 | 0.0164 | 5.9E-14 | 28 | 121 | 39 | 1524 | 0.087 | 0.0391 | 0.0164 | 0.0034 |
| B*52:01 | C*12:02 | 0.0158 | 1.3E-30 | 27 | 58 | 8 | 1619 | 0.0496 | 0.0204 | 0.0158 | 0.001 |
| B*18:01 | C*12:03 | 0.0152 | 1.5E-17 | 26 | 42 | 65 | 1579 | 0.0397 | 0.0532 | 0.0152 | 0.0021 |
| A*30:01 | B*13:02 | 0.0146 | 1.8E-28 | 25 | 42 | 13 | 1632 | 0.0391 | 0.0222 | 0.0146 | 0.0009 |
| B*40:02 | C*03:06 | 0.0140 | 1.7E-20 | 24 | 173 | 3 | 1512 | 0.1151 | 0.0158 | 0.014 | 0.0018 |
| A*02:05 | C*07:01 | 0.0140 | 6.2E-15 | 24 | 11 | 188 | 1489 | 0.0204 | 0.1238 | 0.014 | 0.0025 |
| B*51:01 | C*15:09 | 0.0134 | 1.1E-20 | 23 | 141 | 4 | 1544 | 0.0958 | 0.0158 | 0.0134 | 0.0015 |
| B*51:01 | C*14:02 | 0.0123 | 5.2E-18 | 21 | 143 | 5 | 1543 | 0.0958 | 0.0152 | 0.0123 | 0.0015 |
| A*01:01 | B*57:01 | 0.0123 | 2.9E-16 | 21 | 128 | 10 | 1553 | 0.087 | 0.0181 | 0.0123 | 0.0016 |
| A*26:01 | C*12:03 | 0.0123 | 1.1E-12 | 21 | 43 | 70 | 1578 | 0.0374 | 0.0532 | 0.0123 | 0.002 |
| A*30:02 | C*05:01 | 0.0117 | 9.0E-13 | 20 | 34 | 76 | 1582 | 0.0315 | 0.0561 | 0.0117 | 0.0018 |
| B*39:08 | C*07:02 | 0.0117 | 1.1E-08 | 20 | 1 | 586 | 1105 | 0.0123 | 0.354 | 0.0117 | 0.0043 |
| B*41:01 | C*07:01 | 0.0111 | 1.8E-09 | 19 | 16 | 193 | 1484 | 0.0204 | 0.1238 | 0.0111 | 0.0025 |
| A*26:01 | B*38:01 | 0.0105 | 2.8E-14 | 18 | 46 | 34 | 1614 | 0.0374 | 0.0304 | 0.0105 | 0.0011 |
| B*45:01 | C*06:02 | 0.0105 | 1.4E-11 | 18 | 18 | 118 | 1558 | 0.021 | 0.0794 | 0.0105 | 0.0017 |
| B*40:08 | C*03:04 | 0.0099 | 1.3E-12 | 17 | 3 | 221 | 1471 | 0.0117 | 0.139 | 0.0099 | 0.0016 |
| B*57:01 | C*06:02 | 0.0099 | 7.7E-12 | 17 | 14 | 119 | 1562 | 0.0181 | 0.0794 | 0.0099 | 0.0014 |
| B*41:01 | C*17:01 | 0.0093 | 2.7E-17 | 16 | 19 | 32 | 1645 | 0.0204 | 0.028 | 0.0093 | 0.0006 |
| B*15:30 | C*01:02 | 0.0093 | 3.8E-14 | 16 | 1 | 200 | 1495 | 0.0099 | 0.1262 | 0.0093 | 0.0013 |
| B*40:05 | C*03:04 | 0.0093 | 1.5E-12 | 16 | 2 | 222 | 1472 | 0.0105 | 0.139 | 0.0093 | 0.0015 |
| A*30:01 | C*17:01 | 0.0093 | 4.1E-12 | 16 | 51 | 32 | 1613 | 0.0391 | 0.028 | 0.0093 | 0.0011 |
| B*58:01 | C*07:01 | 0.0093 | 1.4E-08 | 16 | 12 | 196 | 1488 | 0.0164 | 0.1238 | 0.0093 | 0.002 |
| B*44:03 | C*07:02 | 0.0093 | 1.2E-06 | 16 | 92 | 590 | 1014 | 0.0631 | 0.354 | 0.0093 | 0.0223 |
| A*68:02 | C*08:02 | 0.0093 | 3.0E-06 | 16 | 41 | 118 | 1537 | 0.0333 | 0.0783 | 0.0093 | 0.0026 |
| B*42:01 | C*17:01 | 0.0088 | 4.8E-25 | 15 | 0 | 33 | 1664 | 0.0088 | 0.028 | 0.0088 | 0.0002 |
| B*51:02 | C*08:01 | 0.0088 | 4.9E-15 | 15 | 2 | 130 | 1565 | 0.0099 | 0.0847 | 0.0088 | 0.0008 |
| A*30:02 | B*18:01 | 0.0088 | 5.2E-10 | 15 | 39 | 53 | 1605 | 0.0315 | 0.0397 | 0.0088 | 0.0013 |
| B*15:01 | C*07:02 | 0.0088 | 7.1E-08 | 15 | 98 | 591 | 1008 | 0.066 | 0.354 | 0.0088 | 0.0234 |
| B*35:16 | C*04:01 | 0.0088 | 1.3E-07 | 15 | 0 | 584 | 1113 | 0.0088 | 0.3499 | 0.0088 | 0.0031 |
| B*57:01 | C*07:01 | 0.0088 | 7.5E-07 | 15 | 16 | 197 | 1484 | 0.0181 | 0.1238 | 0.0088 | 0.0022 |
| A*02:05 | B*41:01 | 0.0082 | 2.1E-16 | 14 | 21 | 21 | 1656 | 0.0204 | 0.0204 | 0.0082 | 0.0004 |
| B*50:01 | C*06:02 | 0.0082 | 3.9E-11 | 14 | 8 | 122 | 1568 | 0.0129 | 0.0794 | 0.0082 | 0.001 |
| B*45:01 | C*16:01 | 0.0082 | 1.9E-09 | 14 | 22 | 83 | 1593 | 0.021 | 0.0567 | 0.0082 | 0.0012 |
| A*68:02 | B*14:02 | 0.0082 | 2.1E-06 | 14 | 43 | 86 | 1569 | 0.0333 | 0.0584 | 0.0082 | 0.0019 |

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|----|-----|-----|------|--------|--------|--------|--------|
| B*40:01 | C*03:04 | 0.0076 | 2.1E-09 | 13 | 3 | 225 | 1471 | 0.0093 | 0.139 | 0.0076 | 0.0013 |
| A*25:01 | C*12:03 | 0.0070 | 4.0E-10 | 12 | 12 | 79 | 1609 | 0.014 | 0.0532 | 0.007 | 0.0007 |
| A*11:01 | C*12:02 | 0.0070 | 5.3E-07 | 12 | 96 | 23 | 1581 | 0.0631 | 0.0204 | 0.007 | 0.0013 |
| B*37:01 | C*06:02 | 0.0064 | 5.4E-13 | 11 | 0 | 125 | 1576 | 0.0064 | 0.0794 | 0.0064 | 0.0005 |
| B*55:01 | C*03:03 | 0.0064 | 3.6E-11 | 11 | 3 | 108 | 1590 | 0.0082 | 0.0695 | 0.0064 | 0.0006 |
| B*15:03 | C*02:02 | 0.0064 | 2.6E-09 | 11 | 16 | 61 | 1624 | 0.0158 | 0.0421 | 0.0064 | 0.0007 |
| B*15:10 | C*03:04 | 0.0064 | 7.5E-08 | 11 | 3 | 227 | 1471 | 0.0082 | 0.139 | 0.0064 | 0.0011 |
| B*58:01 | C*03:02 | 0.0058 | 7.2E-14 | 10 | 18 | 11 | 1673 | 0.0164 | 0.0123 | 0.0058 | 0.0002 |
| A*30:01 | B*42:01 | 0.0058 | 1.1E-11 | 10 | 57 | 5 | 1640 | 0.0391 | 0.0088 | 0.0058 | 0.0003 |
| B*56:01 | C*01:02 | 0.0058 | 4.4E-08 | 10 | 2 | 206 | 1494 | 0.007 | 0.1262 | 0.0058 | 0.0009 |
| B*58:02 | C*06:02 | 0.0053 | 9.8E-11 | 9 | 0 | 127 | 1576 | 0.0053 | 0.0794 | 0.0053 | 0.0004 |
| B*15:17 | C*07:01 | 0.0053 | 5.9E-09 | 9 | 0 | 203 | 1500 | 0.0053 | 0.1238 | 0.0053 | 0.0007 |
| B*35:01 | C*07:01 | 0.0053 | 8.0E-08 | 9 | 257 | 203 | 1243 | 0.1554 | 0.1238 | 0.0053 | 0.0192 |
| A*25:01 | B*18:01 | 0.0053 | 1.2E-07 | 9 | 15 | 59 | 1629 | 0.014 | 0.0397 | 0.0053 | 0.0006 |
| B*07:05 | C*15:05 | 0.0047 | 8.4E-14 | 8 | 9 | 7 | 1688 | 0.0099 | 0.0088 | 0.0047 | 0.0001 |
| B*48:01 | C*08:03 | 0.0047 | 2.5E-10 | 8 | 103 | 0 | 1601 | 0.0648 | 0.0047 | 0.0047 | 0.0003 |
| A*23:01 | B*15:03 | 0.0047 | 1.6E-06 | 8 | 51 | 19 | 1634 | 0.0345 | 0.0158 | 0.0047 | 0.0005 |
| B*15:03 | C*02:10 | 0.0041 | 1.2E-11 | 7 | 20 | 3 | 1682 | 0.0158 | 0.0058 | 0.0041 | 0.0001 |
| B*57:03 | C*18:01 | 0.0035 | 1.9E-11 | 6 | 10 | 3 | 1693 | 0.0093 | 0.0053 | 0.0035 | 0 |
| B*41:02 | C*17:01 | 0.0035 | 9.5E-09 | 6 | 2 | 42 | 1662 | 0.0047 | 0.028 | 0.0035 | 0.0001 |
| A*74:01 | B*15:03 | 0.0029 | 2.6E-06 | 5 | 11 | 22 | 1674 | 0.0093 | 0.0158 | 0.0029 | 0.0001 |
| B*15:18 | C*07:04 | 0.0018 | 2.6E-07 | 3 | 0 | 9 | 1700 | 0.0018 | 0.007 | 0.0018 | 0 |
| A*02:11 | B*48:02 | 0.0012 | 2.0E-06 | 2 | 1 | 0 | 1709 | 0.0018 | 0.0012 | 0.0012 | 0 |
| B*14:01 | C*04:01 | 0.0006 | 1.4E-06 | 1 | 38 | 598 | 1075 | 0.0228 | 0.3499 | 0.0006 | 0.008 |

Tabla Suplementaria S 3. Desequilibrio de ligamiento HLA de 3-loci en la cohorte MEX.

Título de columnas: Todos, número de individuos que expresan HLA1, HLA2 y HLA3; Sólo HLA1&HLA2, número de individuos que expresan HLA1 y HLA2, pero no HLA3; Sólo HLA3, número de individuos que expresan HLA3, pero no HLA1 ni HLA2; Ninguno, número de individuos que no expresan ni HLA1, HLA2 y HLA3; P(HLA1 & HLA2), frecuencia observada de individuos con HLA1 y HLA2 en la población; P(HLA3), frecuencia observada de individuos con HLA3 en la población; P(HLA1 & HLA2 & HLA3), frecuencia observada de individuos con HLA1, HLA2 y HLA3 en la población. $E(P(HLA1 \& HLA2 \& HLA3))$, frecuencia esperada de P(HLA1 & HLA2 & HLA3) si P(HLA1 & HLA2) y P(HLA3) son independientes [$E(P(HLA1 \& HLA2 \& HLA3)) = P(HLA1 \& HLA2) * P(HLA3)$]. Valor p, valor p exacto de exacta de Fisher de dos colas. Esta es una estimación de la probabilidad de que P(HLA1 & HLA2) y P(HLA3) son independientes, dado los datos observados. Un pequeño valor de p indica que la ocurrencia de HLA1 & HLA2 y HLA3 está vinculada a la población. La matriz de contingencia es [[ambos, sóloHLA1&HLA2], [sóloHLA3], [ninguno]]. Para cada par de alelos HLA encontrado (estadísticamente significativo) en la Tabla suplementaria S2, se usaron pruebas exactas de Fisher contra un tercer locus. Las múltiples comparaciones fueron abordadas con la corrección de Bonferroni. Número de pruebas de Fisher calculadas = $N3 = 6251$. Valor p significativo para las comparaciones = $0.05/N3 = 7.999e-06$ para un nivel de confianza del 95%.

| HLA1 | HLA2 | HLA3 | Frecuencia Poblacional | Valor p | Todos | Sólo HLA1&HLA2 | Sólo HLA3 | Ninguno | P(HLA1 & HLA2) | P(HLA3) | P(HLA1 & HLA2 & HLA3) | E(P(HLA1 & HLA2 & HLA3)) |
|---------|---------|---------|------------------------|---------|-------|----------------|-----------|---------|----------------|---------|-----------------------|--------------------------|
| A*68:03 | B*39:05 | C*07:02 | 0.0783 | 8.7E-32 | 134 | 41 | 472 | 1065 | 0.1022 | 0.354 | 0.0783 | 0.0362 |
| B*35:12 | C*04:01 | A*02:01 | 0.0561 | 1.4E-10 | 96 | 55 | 568 | 993 | 0.0882 | 0.3879 | 0.0561 | 0.0342 |
| A*24:02 | C*03:05 | B*39:06 | 0.0467 | 5.4E-23 | 80 | 394 | 33 | 1205 | 0.2769 | 0.066 | 0.0467 | 0.0183 |
| B*39:06 | C*07:02 | A*24:02 | 0.0467 | 5.4E-23 | 80 | 33 | 394 | 1205 | 0.066 | 0.2769 | 0.0467 | 0.0183 |
| B*39:05 | C*07:02 | A*02:06 | 0.0415 | 1.5E-07 | 71 | 164 | 227 | 1250 | 0.1373 | 0.1741 | 0.0415 | 0.0239 |
| A*01:01 | B*08:01 | C*07:01 | 0.0327 | 5.7E-17 | 56 | 93 | 156 | 1407 | 0.087 | 0.1238 | 0.0327 | 0.0108 |
| A*01:01 | B*57:01 | C*07:01 | 0.0327 | 5.7E-17 | 56 | 93 | 156 | 1407 | 0.087 | 0.1238 | 0.0327 | 0.0108 |
| B*15:15 | C*01:02 | A*02:01 | 0.0310 | 1.0E-11 | 53 | 14 | 611 | 1034 | 0.0391 | 0.3879 | 0.031 | 0.0152 |
| A*29:02 | B*44:03 | C*16:01 | 0.0251 | 1.2E-39 | 43 | 28 | 54 | 1587 | 0.0415 | 0.0567 | 0.0251 | 0.0023 |
| B*44:03 | C*07:02 | A*29:02 | 0.0239 | 4.5E-34 | 41 | 67 | 30 | 1574 | 0.0631 | 0.0415 | 0.0239 | 0.0026 |
| A*33:01 | B*14:02 | C*08:02 | 0.0239 | 1.5E-36 | 41 | 14 | 93 | 1564 | 0.0321 | 0.0783 | 0.0239 | 0.0025 |
| B*07:02 | C*07:02 | A*03:01 | 0.0216 | 1.1E-14 | 37 | 83 | 99 | 1493 | 0.0701 | 0.0794 | 0.0216 | 0.0056 |
| A*01:01 | B*08:01 | C*06:02 | 0.0187 | 3.3E-08 | 32 | 117 | 104 | 1459 | 0.087 | 0.0794 | 0.0187 | 0.0069 |
| A*01:01 | B*57:01 | C*06:02 | 0.0187 | 3.3E-08 | 32 | 117 | 104 | 1459 | 0.087 | 0.0794 | 0.0187 | 0.0069 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|---------|--------|---------|----|-----|-----|------|--------|--------|--------|--------|
| A*30:01 | B*13:02 | C*06:02 | 0.0187 | 2.4E-19 | 32 | 35 | 104 | 1541 | 0.0391 | 0.0794 | 0.0187 | 0.0031 |
| A*30:01 | B*42:01 | C*06:02 | 0.0187 | 2.4E-19 | 32 | 35 | 104 | 1541 | 0.0391 | 0.0794 | 0.0187 | 0.0031 |
| A*01:01 | B*08:01 | C*07:02 | 0.0164 | 5.9E-06 | 28 | 121 | 578 | 985 | 0.087 | 0.354 | 0.0164 | 0.0308 |
| A*01:01 | B*57:01 | C*07:02 | 0.0164 | 5.9E-06 | 28 | 121 | 578 | 985 | 0.087 | 0.354 | 0.0164 | 0.0308 |
| A*30:01 | C*17:01 | B*13:02 | 0.0146 | 1.8E-28 | 25 | 42 | 13 | 1632 | 0.0391 | 0.0222 | 0.0146 | 0.0009 |
| A*02:05 | B*41:01 | C*07:01 | 0.0140 | 6.2E-15 | 24 | 11 | 188 | 1489 | 0.0204 | 0.1238 | 0.014 | 0.0025 |
| A*26:01 | B*38:01 | C*12:03 | 0.0123 | 1.1E-12 | 21 | 43 | 70 | 1578 | 0.0374 | 0.0532 | 0.0123 | 0.002 |
| A*30:02 | B*18:01 | C*05:01 | 0.0117 | 9.0E-13 | 20 | 34 | 76 | 1582 | 0.0315 | 0.0561 | 0.0117 | 0.0018 |
| A*23:01 | B*15:03 | C*06:02 | 0.0093 | 6.0E-06 | 16 | 43 | 120 | 1533 | 0.0345 | 0.0794 | 0.0093 | 0.0027 |
| A*30:01 | B*42:01 | C*17:01 | 0.0093 | 4.1E-12 | 16 | 51 | 32 | 1613 | 0.0391 | 0.028 | 0.0093 | 0.0011 |
| A*68:02 | B*14:02 | C*08:02 | 0.0093 | 3.0E-06 | 16 | 41 | 118 | 1537 | 0.0333 | 0.0783 | 0.0093 | 0.0026 |
| B*18:01 | C*12:03 | A*30:02 | 0.0088 | 5.2E-10 | 15 | 53 | 39 | 1605 | 0.0397 | 0.0315 | 0.0088 | 0.0013 |
| B*41:01 | C*17:01 | A*02:05 | 0.0082 | 2.1E-16 | 14 | 21 | 21 | 1656 | 0.0204 | 0.0204 | 0.0082 | 0.0004 |
| A*25:01 | B*18:01 | C*12:03 | 0.0070 | 4.0E-10 | 12 | 12 | 79 | 1609 | 0.014 | 0.0532 | 0.007 | 0.0007 |
| B*18:01 | C*05:01 | A*25:01 | 0.0053 | 1.2E-07 | 9 | 59 | 15 | 1629 | 0.0397 | 0.014 | 0.0053 | 0.0006 |
| B*14:01 | C*04:01 | A*26:01 | 0.0053 | 7.1E-06 | 9 | 30 | 55 | 1618 | 0.0228 | 0.0374 | 0.0053 | 0.0009 |
| B*14:01 | C*08:02 | A*26:01 | 0.0053 | 7.1E-06 | 9 | 30 | 55 | 1618 | 0.0228 | 0.0374 | 0.0053 | 0.0009 |
| A*26:01 | C*12:03 | B*14:01 | 0.0053 | 7.1E-06 | 9 | 55 | 30 | 1618 | 0.0374 | 0.0228 | 0.0053 | 0.0009 |
| B*15:03 | C*02:02 | A*23:01 | 0.0047 | 1.6E-06 | 8 | 19 | 51 | 1634 | 0.0158 | 0.0345 | 0.0047 | 0.0005 |
| B*15:03 | C*02:10 | A*23:01 | 0.0047 | 1.6E-06 | 8 | 19 | 51 | 1634 | 0.0158 | 0.0345 | 0.0047 | 0.0005 |
| B*15:03 | C*02:02 | A*74:01 | 0.0029 | 2.6E-06 | 5 | 22 | 11 | 1674 | 0.0158 | 0.0093 | 0.0029 | 0.0001 |
| B*15:03 | C*02:10 | A*74:01 | 0.0029 | 2.6E-06 | 5 | 22 | 11 | 1674 | 0.0158 | 0.0093 | 0.0029 | 0.0001 |

Tabla Suplementaria S 4. Desequilibrio de ligamiento HLA de 2-loci en la cohorte CAM.

Títulos de columna igual a los mostrados en la Tabla Suplementaria S2. Las múltiples comparaciones se abordaron con la corrección de Bonferroni. Número de comparaciones realizadas = N2 = 14,234. Valor p significativo = 0.05/N2 = 3.513e-06 para un nivel de confianza del 95%.

| HLA1 | HLA2 | Frecuencias Poblacional | Valor p | Ambos | Sólo HLA1 | Sólo HLA2 | Ninguno | P(HLA1) | P(HLA2) | P(HLA1 & HLA2) | E(P(HLA1 & HLA2)) |
|---------|---------|-------------------------|---------|-------|-----------|-----------|---------|---------|---------|----------------|-------------------|
| B*35:01 | C*04:01 | 0.1374 | 6.7E-44 | 211 | 105 | 297 | 923 | 0.2057 | 0.3307 | 0.1374 | 0.068 |
| B*07:02 | C*07:02 | 0.0853 | 5.7E-54 | 131 | 24 | 305 | 1076 | 0.1009 | 0.2839 | 0.0853 | 0.0286 |
| B*40:02 | C*03:05 | 0.0710 | 3.2E-80 | 109 | 75 | 43 | 1309 | 0.1198 | 0.099 | 0.071 | 0.0119 |
| B*35:43 | C*01:02 | 0.0671 | 7.0E-92 | 103 | 5 | 113 | 1315 | 0.0703 | 0.1406 | 0.0671 | 0.0099 |
| A*24:02 | B*40:02 | 0.0671 | 5.1E-18 | 103 | 322 | 81 | 1030 | 0.2767 | 0.1198 | 0.0671 | 0.0331 |
| B*35:12 | C*04:01 | 0.0658 | 3.8E-45 | 101 | 5 | 407 | 1023 | 0.069 | 0.3307 | 0.0658 | 0.0228 |
| A*68:03 | C*07:02 | 0.0638 | 3.1E-14 | 98 | 86 | 338 | 1014 | 0.1198 | 0.2839 | 0.0638 | 0.034 |
| A*24:02 | C*03:05 | 0.0625 | 4.2E-22 | 96 | 329 | 56 | 1055 | 0.2767 | 0.099 | 0.0625 | 0.0274 |
| B*39:05 | C*07:02 | 0.0612 | 3.6E-45 | 94 | 8 | 342 | 1092 | 0.0664 | 0.2839 | 0.0612 | 0.0188 |
| A*24:02 | C*01:02 | 0.0592 | 7.2E-07 | 91 | 334 | 125 | 986 | 0.2767 | 0.1406 | 0.0592 | 0.0389 |
| B*14:02 | C*08:02 | 0.0501 | 6.6E-95 | 77 | 7 | 32 | 1420 | 0.0547 | 0.071 | 0.0501 | 0.0039 |
| B*39:08 | C*07:02 | 0.0482 | 7.4E-33 | 74 | 9 | 362 | 1091 | 0.054 | 0.2839 | 0.0482 | 0.0153 |
| A*02:01 | B*35:12 | 0.0469 | 5.4E-15 | 72 | 422 | 34 | 1008 | 0.3216 | 0.069 | 0.0469 | 0.0222 |
| B*08:01 | C*07:01 | 0.0449 | 8.6E-43 | 69 | 18 | 173 | 1276 | 0.0566 | 0.1576 | 0.0449 | 0.0089 |
| A*02:06 | C*07:02 | 0.0449 | 7.0E-11 | 69 | 56 | 367 | 1044 | 0.0814 | 0.2839 | 0.0449 | 0.0231 |
| A*01:01 | C*07:01 | 0.0417 | 4.8E-24 | 64 | 55 | 178 | 1239 | 0.0775 | 0.1576 | 0.0417 | 0.0122 |
| B*53:01 | C*04:01 | 0.0397 | 5.6E-17 | 61 | 17 | 447 | 1011 | 0.0508 | 0.3307 | 0.0397 | 0.0168 |
| B*40:02 | C*03:04 | 0.0365 | 3.4E-15 | 56 | 128 | 112 | 1240 | 0.1198 | 0.1094 | 0.0365 | 0.0131 |
| B*49:01 | C*07:01 | 0.0339 | 1.0E-35 | 52 | 8 | 190 | 1286 | 0.0391 | 0.1576 | 0.0339 | 0.0062 |
| A*68:03 | B*39:05 | 0.0326 | 3.5E-22 | 50 | 134 | 52 | 1300 | 0.1198 | 0.0664 | 0.0326 | 0.008 |
| B*15:01 | C*01:02 | 0.0319 | 7.4E-25 | 49 | 29 | 167 | 1291 | 0.0508 | 0.1406 | 0.0319 | 0.0071 |
| A*03:01 | B*07:02 | 0.0319 | 2.9E-15 | 49 | 108 | 106 | 1273 | 0.1022 | 0.1009 | 0.0319 | 0.0103 |
| A*29:02 | C*16:01 | 0.0299 | 2.3E-30 | 46 | 43 | 77 | 1370 | 0.0579 | 0.0801 | 0.0299 | 0.0046 |
| B*44:03 | C*16:01 | 0.0299 | 4.6E-26 | 46 | 60 | 77 | 1353 | 0.069 | 0.0801 | 0.0299 | 0.0055 |
| A*01:01 | B*08:01 | 0.0286 | 3.8E-29 | 44 | 75 | 43 | 1374 | 0.0775 | 0.0566 | 0.0286 | 0.0044 |
| B*15:03 | C*02:10 | 0.0273 | 9.1E-58 | 42 | 30 | 4 | 1460 | 0.0469 | 0.0299 | 0.0273 | 0.0014 |
| B*51:01 | C*15:02 | 0.0267 | 1.4E-33 | 41 | 81 | 20 | 1394 | 0.0794 | 0.0397 | 0.0267 | 0.0032 |

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|----|-----|-----|------|--------|--------|--------|--------|
| A*29:02 | B*44:03 | 0.0260 | 4.6E-26 | 40 | 49 | 66 | 1381 | 0.0579 | 0.069 | 0.026 | 0.004 |
| B*44:02 | C*05:01 | 0.0247 | 1.9E-42 | 38 | 7 | 58 | 1433 | 0.0293 | 0.0625 | 0.0247 | 0.0018 |
| B*38:01 | C*12:03 | 0.0247 | 6.4E-42 | 38 | 8 | 57 | 1433 | 0.0299 | 0.0618 | 0.0247 | 0.0019 |
| B*35:17 | C*04:01 | 0.0234 | 4.5E-14 | 36 | 4 | 472 | 1024 | 0.026 | 0.3307 | 0.0234 | 0.0086 |
| B*18:01 | C*05:01 | 0.0208 | 2.1E-20 | 32 | 47 | 64 | 1393 | 0.0514 | 0.0625 | 0.0208 | 0.0032 |
| B*39:11 | C*07:02 | 0.0208 | 1.4E-18 | 32 | 0 | 404 | 1100 | 0.0208 | 0.2839 | 0.0208 | 0.0059 |
| A*02:06 | B*39:08 | 0.0202 | 8.6E-15 | 31 | 94 | 52 | 1359 | 0.0814 | 0.054 | 0.0202 | 0.0044 |
| A*68:03 | B*35:43 | 0.0195 | 3.3E-06 | 30 | 154 | 78 | 1274 | 0.1198 | 0.0703 | 0.0195 | 0.0084 |
| A*30:01 | C*17:01 | 0.0189 | 3.3E-24 | 29 | 50 | 30 | 1427 | 0.0514 | 0.0384 | 0.0189 | 0.002 |
| B*58:01 | C*07:01 | 0.0182 | 1.0E-09 | 28 | 28 | 214 | 1266 | 0.0365 | 0.1576 | 0.0182 | 0.0057 |
| B*52:01 | C*12:02 | 0.0176 | 1.9E-35 | 27 | 37 | 5 | 1467 | 0.0417 | 0.0208 | 0.0176 | 0.0009 |
| A*33:01 | C*08:02 | 0.0176 | 9.8E-18 | 27 | 30 | 82 | 1397 | 0.0371 | 0.071 | 0.0176 | 0.0026 |
| A*33:01 | B*14:02 | 0.0163 | 1.8E-18 | 25 | 32 | 59 | 1420 | 0.0371 | 0.0547 | 0.0163 | 0.002 |
| B*15:03 | C*02:02 | 0.0163 | 2.9E-15 | 25 | 47 | 61 | 1403 | 0.0469 | 0.056 | 0.0163 | 0.0026 |
| B*13:02 | C*06:02 | 0.0156 | 6.2E-26 | 24 | 2 | 95 | 1415 | 0.0169 | 0.0775 | 0.0156 | 0.0013 |
| B*18:01 | C*12:03 | 0.0156 | 4.2E-12 | 24 | 55 | 71 | 1386 | 0.0514 | 0.0618 | 0.0156 | 0.0032 |
| B*58:01 | C*03:02 | 0.0150 | 1.7E-22 | 23 | 33 | 26 | 1454 | 0.0365 | 0.0319 | 0.015 | 0.0012 |
| B*45:01 | C*16:01 | 0.0150 | 7.7E-15 | 23 | 22 | 100 | 1391 | 0.0293 | 0.0801 | 0.015 | 0.0023 |
| B*15:10 | C*03:04 | 0.0150 | 3.0E-14 | 23 | 14 | 145 | 1354 | 0.0241 | 0.1094 | 0.015 | 0.0026 |
| B*39:06 | C*07:02 | 0.0150 | 2.8E-11 | 23 | 2 | 413 | 1098 | 0.0163 | 0.2839 | 0.015 | 0.0046 |
| A*23:01 | B*15:03 | 0.0150 | 1.0E-09 | 23 | 99 | 49 | 1365 | 0.0794 | 0.0469 | 0.015 | 0.0037 |
| B*40:01 | C*03:04 | 0.0143 | 5.3E-16 | 22 | 8 | 146 | 1360 | 0.0195 | 0.1094 | 0.0143 | 0.0021 |
| A*26:01 | C*12:03 | 0.0143 | 3.6E-10 | 22 | 58 | 73 | 1383 | 0.0521 | 0.0618 | 0.0143 | 0.0032 |
| B*42:01 | C*17:01 | 0.0137 | 2.2E-27 | 21 | 5 | 38 | 1472 | 0.0169 | 0.0384 | 0.0137 | 0.0007 |
| B*15:01 | C*03:03 | 0.0137 | 6.2E-12 | 21 | 57 | 52 | 1406 | 0.0508 | 0.0475 | 0.0137 | 0.0024 |
| A*30:02 | C*05:01 | 0.0137 | 3.2E-06 | 21 | 95 | 75 | 1345 | 0.0755 | 0.0625 | 0.0137 | 0.0047 |
| B*57:01 | C*07:01 | 0.0130 | 4.2E-12 | 20 | 6 | 222 | 1288 | 0.0169 | 0.1576 | 0.013 | 0.0027 |
| B*58:02 | C*06:02 | 0.0124 | 1.9E-22 | 19 | 0 | 100 | 1417 | 0.0124 | 0.0775 | 0.0124 | 0.001 |
| B*45:01 | C*06:02 | 0.0124 | 8.6E-11 | 19 | 26 | 100 | 1391 | 0.0293 | 0.0775 | 0.0124 | 0.0023 |
| A*30:02 | B*18:01 | 0.0124 | 2.2E-06 | 19 | 97 | 60 | 1360 | 0.0755 | 0.0514 | 0.0124 | 0.0039 |
| A*68:02 | B*53:01 | 0.0117 | 1.2E-09 | 18 | 50 | 60 | 1408 | 0.0443 | 0.0508 | 0.0117 | 0.0022 |
| B*14:01 | C*08:02 | 0.0111 | 4.1E-17 | 17 | 4 | 92 | 1423 | 0.0137 | 0.071 | 0.0111 | 0.001 |
| B*51:01 | C*14:02 | 0.0111 | 3.4E-12 | 17 | 105 | 13 | 1401 | 0.0794 | 0.0195 | 0.0111 | 0.0016 |
| A*26:01 | B*38:01 | 0.0111 | 1.5E-11 | 17 | 63 | 29 | 1427 | 0.0521 | 0.0299 | 0.0111 | 0.0016 |
| B*52:01 | C*03:03 | 0.0111 | 1.2E-09 | 17 | 47 | 56 | 1416 | 0.0417 | 0.0475 | 0.0111 | 0.002 |
| A*23:01 | C*02:10 | 0.0111 | 1.7E-08 | 17 | 105 | 29 | 1385 | 0.0794 | 0.0299 | 0.0111 | 0.0024 |
| B*35:02 | C*04:01 | 0.0111 | 7.1E-08 | 17 | 1 | 491 | 1027 | 0.0117 | 0.3307 | 0.0111 | 0.0039 |
| B*50:01 | C*06:02 | 0.0104 | 8.5E-17 | 16 | 2 | 103 | 1415 | 0.0117 | 0.0775 | 0.0104 | 0.0009 |
| A*30:01 | B*42:01 | 0.0104 | 1.8E-15 | 16 | 63 | 10 | 1447 | 0.0514 | 0.0169 | 0.0104 | 0.0009 |
| B*35:20 | C*04:01 | 0.0104 | 1.7E-08 | 16 | 0 | 492 | 1028 | 0.0104 | 0.3307 | 0.0104 | 0.0034 |
| B*39:01 | C*12:03 | 0.0091 | 5.7E-09 | 14 | 22 | 81 | 1419 | 0.0234 | 0.0618 | 0.0091 | 0.0014 |
| B*55:01 | C*03:03 | 0.0085 | 1.3E-13 | 13 | 7 | 60 | 1456 | 0.013 | 0.0475 | 0.0085 | 0.0006 |
| B*51:01 | C*15:09 | 0.0085 | 1.3E-10 | 13 | 109 | 7 | 1407 | 0.0794 | 0.013 | 0.0085 | 0.001 |
| B*81:01 | C*18:01 | 0.0078 | 1.3E-20 | 12 | 2 | 17 | 1505 | 0.0091 | 0.0189 | 0.0078 | 0.0002 |
| B*57:03 | C*18:01 | 0.0078 | 7.1E-18 | 12 | 7 | 17 | 1500 | 0.0124 | 0.0189 | 0.0078 | 0.0002 |
| A*68:02 | B*15:10 | 0.0078 | 1.6E-08 | 12 | 56 | 25 | 1443 | 0.0443 | 0.0241 | 0.0078 | 0.0011 |
| B*37:01 | C*06:02 | 0.0072 | 1.2E-10 | 11 | 3 | 108 | 1414 | 0.0091 | 0.0775 | 0.0072 | 0.0007 |
| A*25:01 | B*18:01 | 0.0072 | 3.8E-10 | 11 | 9 | 68 | 1448 | 0.013 | 0.0514 | 0.0072 | 0.0007 |
| A*33:03 | C*03:02 | 0.0072 | 1.8E-09 | 11 | 23 | 38 | 1464 | 0.0221 | 0.0319 | 0.0072 | 0.0007 |
| B*07:02 | C*15:05 | 0.0072 | 5.9E-07 | 11 | 144 | 9 | 1372 | 0.1009 | 0.013 | 0.0072 | 0.0013 |
| B*57:01 | C*06:02 | 0.0072 | 1.1E-06 | 11 | 15 | 108 | 1402 | 0.0169 | 0.0775 | 0.0072 | 0.0013 |
| B*48:01 | C*08:01 | 0.0065 | 1.8E-15 | 10 | 14 | 7 | 1505 | 0.0156 | 0.0111 | 0.0065 | 0.0002 |
| B*27:05 | C*02:02 | 0.0065 | 1.1E-08 | 10 | 9 | 76 | 1441 | 0.0124 | 0.056 | 0.0065 | 0.0007 |
| A*25:01 | C*12:03 | 0.0065 | 5.7E-08 | 10 | 10 | 85 | 1431 | 0.013 | 0.0618 | 0.0065 | 0.0008 |
| B*41:02 | C*17:01 | 0.0059 | 9.5E-13 | 9 | 1 | 50 | 1476 | 0.0065 | 0.0384 | 0.0059 | 0.0003 |
| B*39:08 | C*07:17 | 0.0059 | 2.5E-11 | 9 | 74 | 1 | 1452 | 0.054 | 0.0065 | 0.0059 | 0.0004 |
| B*56:01 | C*01:02 | 0.0059 | 1.9E-08 | 9 | 0 | 207 | 1320 | 0.0059 | 0.1406 | 0.0059 | 0.0008 |
| B*40:02 | C*07:01 | 0.0059 | 2.5E-06 | 9 | 175 | 233 | 1119 | 0.1198 | 0.1576 | 0.0059 | 0.0189 |

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|---|----|----|------|--------|--------|--------|--------|
| A*36:01 | B*53:01 | 0.0052 | 2.9E-07 | 8 | 8 | 70 | 1450 | 0.0104 | 0.0508 | 0.0052 | 0.0005 |
| B*48:01 | C*08:03 | 0.0046 | 6.9E-13 | 7 | 17 | 1 | 1511 | 0.0156 | 0.0052 | 0.0046 | 0.0001 |
| B*51:07 | C*14:02 | 0.0039 | 3.3E-11 | 6 | 0 | 24 | 1506 | 0.0039 | 0.0195 | 0.0039 | 0.0001 |
| B*15:16 | C*14:02 | 0.0039 | 2.7E-09 | 6 | 3 | 24 | 1503 | 0.0059 | 0.0195 | 0.0039 | 0.0001 |
| A*02:05 | B*50:01 | 0.0039 | 2.3E-06 | 6 | 32 | 12 | 1486 | 0.0247 | 0.0117 | 0.0039 | 0.0003 |
| B*15:18 | C*07:04 | 0.0026 | 7.1E-09 | 4 | 1 | 7 | 1524 | 0.0033 | 0.0072 | 0.0026 | 0 |
| A*69:01 | B*55:01 | 0.0026 | 3.1E-07 | 4 | 2 | 16 | 1514 | 0.0039 | 0.013 | 0.0026 | 0.0001 |
| B*42:02 | C*17:01 | 0.0026 | 2.0E-06 | 4 | 0 | 55 | 1477 | 0.0026 | 0.0384 | 0.0026 | 0.0001 |
| B*15:31 | C*04:07 | 0.0020 | 1.7E-09 | 3 | 0 | 0 | 1533 | 0.002 | 0.002 | 0.002 | 0 |
| A*02:07 | B*46:01 | 0.0020 | 1.7E-08 | 3 | 0 | 2 | 1531 | 0.002 | 0.0033 | 0.002 | 0 |

Tabla Suplementaria S 5. Desequilibrio de ligamiento HLA de 3-loci en la cohorte CAM.

Títulos de columna igual a las mostradas en Tabla Suplementaria S3. Para cada par de alelos HLA encontrado (estadísticamente significativo) en la Tabla suplementaria S4, se usaron pruebas exactas de Fisher contra un tercer locus. Las múltiples comparaciones fueron abordadas con la corrección de Bonferroni. Número de pruebas de Fisher calculadas = N3= 6,092. Valor p significativo para las comparaciones = 0.05/N3 = 8.207e-06 para un nivel de confianza del 95%.

| HLA1 | HLA2 | HLA3 | Frecuencia Poblacional | Valor p | Todos | Sólo HLA1&HLA2 | Sólo HLA3 | Ninguno | P(HLA1 & HLA2) | P(HLA3) | P(HLA1 & HLA2 & HLA3) | E(P(HLA1 & HLA2 & HLA3)) |
|---------|---------|---------|------------------------|---------|-------|----------------|-----------|---------|----------------|---------|-----------------------|--------------------------|
| A*24:02 | C*01:02 | B*40:02 | 0.0671 | 5.1E-18 | 103 | 322 | 81 | 1030 | 0.2767 | 0.1198 | 0.0671 | 0.0331 |
| B*40:02 | C*03:04 | A*24:02 | 0.0671 | 5.1E-18 | 103 | 81 | 322 | 1030 | 0.1198 | 0.2767 | 0.0671 | 0.0331 |
| A*24:02 | C*03:05 | B*40:02 | 0.0671 | 5.1E-18 | 103 | 322 | 81 | 1030 | 0.2767 | 0.1198 | 0.0671 | 0.0331 |
| B*40:02 | C*07:01 | A*24:02 | 0.0671 | 5.1E-18 | 103 | 81 | 322 | 1030 | 0.1198 | 0.2767 | 0.0671 | 0.0331 |
| A*68:03 | B*35:43 | C*07:02 | 0.0638 | 3.1E-14 | 98 | 86 | 338 | 1014 | 0.1198 | 0.2839 | 0.0638 | 0.034 |
| A*68:03 | B*39:05 | C*07:02 | 0.0638 | 3.1E-14 | 98 | 86 | 338 | 1014 | 0.1198 | 0.2839 | 0.0638 | 0.034 |
| B*35:12 | C*04:01 | A*02:01 | 0.0469 | 5.4E-15 | 72 | 34 | 422 | 1008 | 0.069 | 0.3216 | 0.0469 | 0.0222 |
| A*02:06 | B*39:08 | C*07:02 | 0.0449 | 7.0E-11 | 69 | 56 | 367 | 1044 | 0.0814 | 0.2839 | 0.0449 | 0.0231 |
| A*01:01 | B*08:01 | C*07:01 | 0.0417 | 4.8E-24 | 64 | 55 | 178 | 1239 | 0.0775 | 0.1576 | 0.0417 | 0.0122 |
| B*07:02 | C*07:02 | A*03:01 | 0.0319 | 2.9E-15 | 49 | 106 | 108 | 1273 | 0.1009 | 0.1022 | 0.0319 | 0.0103 |
| B*07:02 | C*15:05 | A*03:01 | 0.0319 | 2.9E-15 | 49 | 106 | 108 | 1273 | 0.1009 | 0.1022 | 0.0319 | 0.0103 |
| A*29:02 | B*44:03 | C*16:01 | 0.0299 | 2.3E-30 | 46 | 43 | 77 | 1370 | 0.0579 | 0.0801 | 0.0299 | 0.0046 |
| B*39:08 | C*07:17 | A*02:06 | 0.0202 | 8.6E-15 | 31 | 52 | 94 | 1359 | 0.054 | 0.0814 | 0.0202 | 0.0044 |
| B*35:43 | C*01:02 | A*68:03 | 0.0195 | 3.3E-06 | 30 | 78 | 154 | 1274 | 0.0703 | 0.1198 | 0.0195 | 0.0084 |
| A*30:01 | B*42:01 | C*17:01 | 0.0189 | 3.3E-24 | 29 | 50 | 30 | 1427 | 0.0514 | 0.0384 | 0.0189 | 0.002 |
| A*33:01 | B*14:02 | C*08:02 | 0.0176 | 9.8E-18 | 27 | 30 | 82 | 1397 | 0.0371 | 0.071 | 0.0176 | 0.0026 |
| B*15:03 | C*02:02 | A*23:01 | 0.0150 | 1.0E-09 | 23 | 49 | 99 | 1365 | 0.0469 | 0.0794 | 0.015 | 0.0037 |
| A*23:01 | C*02:10 | B*15:03 | 0.0150 | 1.0E-09 | 23 | 99 | 49 | 1365 | 0.0794 | 0.0469 | 0.015 | 0.0037 |
| A*26:01 | B*38:01 | C*12:03 | 0.0143 | 3.6E-10 | 22 | 58 | 73 | 1383 | 0.0521 | 0.0618 | 0.0143 | 0.0032 |
| A*30:02 | B*18:01 | C*05:01 | 0.0137 | 3.2E-06 | 21 | 95 | 75 | 1345 | 0.0755 | 0.0625 | 0.0137 | 0.0047 |
| B*18:01 | C*12:03 | A*30:02 | 0.0124 | 2.2E-06 | 19 | 60 | 97 | 1360 | 0.0514 | 0.0755 | 0.0124 | 0.0039 |
| B*53:01 | C*04:01 | A*68:02 | 0.0117 | 1.2E-09 | 18 | 60 | 50 | 1408 | 0.0508 | 0.0443 | 0.0117 | 0.0022 |
| B*15:10 | C*03:04 | A*68:02 | 0.0078 | 1.6E-08 | 12 | 25 | 56 | 1443 | 0.0241 | 0.0443 | 0.0078 | 0.0011 |
| B*18:01 | C*05:01 | A*25:01 | 0.0072 | 3.8E-10 | 11 | 68 | 9 | 1448 | 0.0514 | 0.013 | 0.0072 | 0.0007 |
| A*25:01 | C*12:03 | B*18:01 | 0.0072 | 3.8E-10 | 11 | 9 | 68 | 1448 | 0.013 | 0.0514 | 0.0072 | 0.0007 |
| B*58:01 | C*03:02 | A*02:05 | 0.0059 | 4.3E-06 | 9 | 47 | 29 | 1451 | 0.0365 | 0.0247 | 0.0059 | 0.0009 |
| B*58:01 | C*07:01 | A*02:05 | 0.0059 | 4.3E-06 | 9 | 47 | 29 | 1451 | 0.0365 | 0.0247 | 0.0059 | 0.0009 |
| B*53:01 | C*04:01 | A*36:01 | 0.0052 | 2.9E-07 | 8 | 70 | 8 | 1450 | 0.0508 | 0.0104 | 0.0052 | 0.0005 |
| B*50:01 | C*06:02 | A*02:05 | 0.0039 | 2.3E-06 | 6 | 12 | 32 | 1486 | 0.0117 | 0.0247 | 0.0039 | 0.0003 |
| B*55:01 | C*03:03 | A*69:01 | 0.0026 | 3.1E-07 | 4 | 16 | 2 | 1514 | 0.013 | 0.0039 | 0.0026 | 0.0001 |

Tabla Suplementaria S 6. Desequilibrio de ligamiento HLA de 2-loci en la cohorte combinada MEX/CAM.

Títulos de columna igual a los mostrados en la Tabla Suplementaria S2. Las múltiples comparaciones se abordaron con la corrección de Bonferroni. Número de comparaciones realizadas = $N2 = 21,421$. Valor p significativo = $0.05/N2 = 2.334e-06$ para un nivel de confianza del 95%.

| HLA1 | HLA2 | Frecuencia Poblacional | Valor p | Ambos | Sólo HLA1 | Sólo HLA2 | Ninguno | P(HLA1) | P(HLA2) | P(HLA1 & HLA2) | E(P(HLA1 & HLA2)) |
|---------|---------|------------------------|----------|-------|-----------|-----------|---------|---------|---------|----------------|-------------------|
| B*35:01 | C*04:01 | 0.1293 | 1.9E-96 | 420 | 163 | 687 | 1979 | 0.1794 | 0.3407 | 0.1293 | 0.0611 |
| B*39:05 | C*07:02 | 0.0976 | 3.8E-144 | 317 | 20 | 726 | 2186 | 0.1037 | 0.321 | 0.0976 | 0.0333 |
| B*35:12 | C*04:01 | 0.0751 | 7.5E-104 | 244 | 13 | 863 | 2129 | 0.0791 | 0.3407 | 0.0751 | 0.027 |
| B*07:02 | C*07:02 | 0.0742 | 8.0E-90 | 241 | 34 | 802 | 2172 | 0.0846 | 0.321 | 0.0742 | 0.0272 |
| A*68:03 | C*07:02 | 0.0714 | 3.1E-41 | 232 | 127 | 811 | 2079 | 0.1105 | 0.321 | 0.0714 | 0.0355 |
| A*02:06 | C*07:02 | 0.0634 | 4.3E-14 | 206 | 218 | 837 | 1988 | 0.1305 | 0.321 | 0.0634 | 0.0419 |
| A*24:02 | B*40:02 | 0.0563 | 2.8E-19 | 183 | 717 | 199 | 2150 | 0.277 | 0.1176 | 0.0563 | 0.0326 |
| A*02:01 | B*35:12 | 0.0517 | 6.3E-24 | 168 | 990 | 89 | 2002 | 0.3564 | 0.0791 | 0.0517 | 0.0282 |
| B*14:02 | C*08:02 | 0.0511 | 8.0E-195 | 166 | 18 | 77 | 2988 | 0.0566 | 0.0748 | 0.0511 | 0.0042 |
| B*40:02 | C*03:05 | 0.0468 | 1.3E-104 | 152 | 230 | 59 | 2808 | 0.1176 | 0.0649 | 0.0468 | 0.0076 |
| A*68:03 | B*39:05 | 0.0468 | 2.8E-67 | 152 | 207 | 185 | 2705 | 0.1105 | 0.1037 | 0.0468 | 0.0115 |
| B*40:02 | C*03:04 | 0.0468 | 3.7E-49 | 152 | 230 | 255 | 2612 | 0.1176 | 0.1253 | 0.0468 | 0.0147 |
| B*35:43 | C*01:02 | 0.0403 | 2.7E-114 | 131 | 6 | 301 | 2811 | 0.0422 | 0.133 | 0.0403 | 0.0056 |
| B*35:17 | C*04:01 | 0.0403 | 3.7E-53 | 131 | 8 | 976 | 2134 | 0.0428 | 0.3407 | 0.0403 | 0.0146 |
| B*39:06 | C*07:02 | 0.0400 | 3.7E-56 | 130 | 8 | 913 | 2198 | 0.0425 | 0.321 | 0.04 | 0.0136 |
| A*24:02 | C*03:05 | 0.0400 | 1.5E-26 | 130 | 770 | 81 | 2268 | 0.277 | 0.0649 | 0.04 | 0.018 |
| B*08:01 | C*07:01 | 0.0397 | 3.2E-91 | 129 | 25 | 325 | 2770 | 0.0474 | 0.1397 | 0.0397 | 0.0066 |
| A*01:01 | C*07:01 | 0.0369 | 1.7E-38 | 120 | 148 | 334 | 2647 | 0.0825 | 0.1397 | 0.0369 | 0.0115 |
| B*15:01 | C*01:02 | 0.0354 | 7.0E-57 | 115 | 76 | 317 | 2741 | 0.0588 | 0.133 | 0.0354 | 0.0078 |
| B*48:01 | C*08:01 | 0.0332 | 2.0E-133 | 108 | 27 | 54 | 3060 | 0.0416 | 0.0499 | 0.0332 | 0.0021 |
| B*44:03 | C*16:01 | 0.0332 | 1.1E-78 | 108 | 106 | 112 | 2923 | 0.0659 | 0.0677 | 0.0332 | 0.0045 |
| A*02:01 | C*03:03 | 0.0314 | 3.5E-07 | 102 | 1056 | 90 | 2001 | 0.3564 | 0.0591 | 0.0314 | 0.0211 |
| B*51:01 | C*15:02 | 0.0302 | 2.2E-75 | 98 | 188 | 45 | 2918 | 0.088 | 0.044 | 0.0302 | 0.0039 |
| A*24:02 | B*39:06 | 0.0299 | 2.2E-26 | 97 | 803 | 41 | 2308 | 0.277 | 0.0425 | 0.0299 | 0.0118 |
| B*53:01 | C*04:01 | 0.0299 | 3.4E-24 | 97 | 28 | 1010 | 2114 | 0.0385 | 0.3407 | 0.0299 | 0.0131 |
| B*39:08 | C*07:02 | 0.0289 | 1.6E-36 | 94 | 10 | 949 | 2196 | 0.032 | 0.321 | 0.0289 | 0.0103 |
| A*02:06 | B*39:05 | 0.0280 | 3.1E-13 | 91 | 333 | 246 | 2579 | 0.1305 | 0.1037 | 0.028 | 0.0135 |
| A*29:02 | C*16:01 | 0.0274 | 4.3E-68 | 89 | 71 | 131 | 2958 | 0.0492 | 0.0677 | 0.0274 | 0.0033 |
| B*49:01 | C*07:01 | 0.0271 | 5.8E-65 | 88 | 12 | 366 | 2783 | 0.0308 | 0.1397 | 0.0271 | 0.0043 |
| A*68:01 | C*03:04 | 0.0268 | 7.2E-10 | 87 | 287 | 320 | 2555 | 0.1151 | 0.1253 | 0.0268 | 0.0144 |
| A*03:01 | B*07:02 | 0.0265 | 7.1E-29 | 86 | 207 | 189 | 2767 | 0.0902 | 0.0846 | 0.0265 | 0.0076 |
| B*39:01 | C*07:02 | 0.0265 | 1.6E-19 | 86 | 34 | 957 | 2172 | 0.0369 | 0.321 | 0.0265 | 0.0119 |
| B*44:02 | C*05:01 | 0.0255 | 4.7E-92 | 83 | 18 | 109 | 3039 | 0.0311 | 0.0591 | 0.0255 | 0.0018 |
| A*29:02 | B*44:03 | 0.0249 | 4.3E-58 | 81 | 79 | 133 | 2956 | 0.0492 | 0.0659 | 0.0249 | 0.0032 |
| B*40:02 | C*04:01 | 0.0240 | 6.1E-10 | 78 | 304 | 1029 | 1838 | 0.1176 | 0.3407 | 0.024 | 0.0401 |
| A*02:01 | B*35:17 | 0.0237 | 1.3E-06 | 77 | 1081 | 62 | 2029 | 0.3564 | 0.0428 | 0.0237 | 0.0152 |
| B*38:01 | C*12:03 | 0.0234 | 3.1E-81 | 76 | 22 | 110 | 3041 | 0.0302 | 0.0572 | 0.0234 | 0.0017 |
| B*39:02 | C*07:02 | 0.0234 | 2.3E-20 | 76 | 23 | 967 | 2183 | 0.0305 | 0.321 | 0.0234 | 0.0098 |
| B*40:02 | C*07:02 | 0.0228 | 4.4E-09 | 74 | 308 | 969 | 1898 | 0.1176 | 0.321 | 0.0228 | 0.0377 |
| A*01:01 | B*08:01 | 0.0222 | 3.3E-40 | 72 | 196 | 82 | 2899 | 0.0825 | 0.0474 | 0.0222 | 0.0039 |
| B*15:15 | C*01:02 | 0.0209 | 1.7E-53 | 68 | 7 | 364 | 2810 | 0.0231 | 0.133 | 0.0209 | 0.0031 |
| A*33:01 | C*08:02 | 0.0209 | 4.2E-51 | 68 | 44 | 175 | 2962 | 0.0345 | 0.0748 | 0.0209 | 0.0026 |
| B*52:01 | C*03:03 | 0.0200 | 5.6E-44 | 65 | 84 | 127 | 2973 | 0.0459 | 0.0591 | 0.02 | 0.0027 |
| B*13:02 | C*06:02 | 0.0191 | 2.9E-69 | 62 | 2 | 193 | 2992 | 0.0197 | 0.0785 | 0.0191 | 0.0015 |
| A*33:01 | B*14:02 | 0.0191 | 2.3E-51 | 62 | 50 | 122 | 3015 | 0.0345 | 0.0566 | 0.0191 | 0.002 |
| A*02:01 | B*44:02 | 0.0188 | 4.0E-07 | 61 | 1097 | 40 | 2051 | 0.3564 | 0.0311 | 0.0188 | 0.0111 |
| B*18:01 | C*05:01 | 0.0185 | 2.7E-38 | 60 | 87 | 132 | 2970 | 0.0452 | 0.0591 | 0.0185 | 0.0027 |
| A*02:01 | B*15:15 | 0.0179 | 1.1E-13 | 58 | 1100 | 17 | 2074 | 0.3564 | 0.0231 | 0.0179 | 0.0082 |
| B*07:02 | C*04:01 | 0.0179 | 1.1E-06 | 58 | 217 | 1049 | 1925 | 0.0846 | 0.3407 | 0.0179 | 0.0288 |
| B*15:01 | C*03:03 | 0.0172 | 9.2E-27 | 56 | 135 | 136 | 2922 | 0.0588 | 0.0591 | 0.0172 | 0.0035 |
| B*52:01 | C*12:02 | 0.0166 | 2.3E-64 | 54 | 95 | 13 | 3087 | 0.0459 | 0.0206 | 0.0166 | 0.0009 |
| B*18:01 | C*12:03 | 0.0154 | 7.1E-28 | 50 | 97 | 136 | 2966 | 0.0452 | 0.0572 | 0.0154 | 0.0026 |
| B*15:03 | C*02:10 | 0.0151 | 7.7E-73 | 49 | 50 | 7 | 3143 | 0.0305 | 0.0172 | 0.0151 | 0.0005 |
| B*14:01 | C*08:02 | 0.0148 | 5.7E-45 | 48 | 12 | 195 | 2994 | 0.0185 | 0.0748 | 0.0148 | 0.0014 |

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|----|-----|------|------|--------|--------|--------|--------|
| B*35:02 | C*04:01 | 0.0148 | 6.0E-22 | 48 | 1 | 1059 | 2141 | 0.0151 | 0.3407 | 0.0148 | 0.0051 |
| A*01:01 | C*06:02 | 0.0148 | 1.6E-08 | 48 | 220 | 207 | 2774 | 0.0825 | 0.0785 | 0.0148 | 0.0065 |
| A*01:01 | C*07:02 | 0.0145 | 3.5E-08 | 47 | 221 | 996 | 1985 | 0.0825 | 0.321 | 0.0145 | 0.0265 |
| A*30:01 | C*17:01 | 0.0139 | 7.3E-35 | 45 | 101 | 62 | 3041 | 0.0449 | 0.0329 | 0.0139 | 0.0015 |
| A*30:01 | C*06:02 | 0.0139 | 4.7E-17 | 45 | 101 | 210 | 2893 | 0.0449 | 0.0785 | 0.0139 | 0.0035 |
| B*58:01 | C*07:01 | 0.0135 | 2.7E-17 | 44 | 40 | 410 | 2755 | 0.0259 | 0.1397 | 0.0135 | 0.0036 |
| A*02:06 | C*08:01 | 0.0135 | 8.8E-07 | 44 | 380 | 118 | 2707 | 0.1305 | 0.0499 | 0.0135 | 0.0065 |
| B*35:01 | C*01:02 | 0.0135 | 2.2E-06 | 44 | 539 | 388 | 2278 | 0.1794 | 0.133 | 0.0135 | 0.0239 |
| A*26:01 | C*12:03 | 0.0132 | 2.6E-21 | 43 | 101 | 143 | 2962 | 0.0443 | 0.0572 | 0.0132 | 0.0025 |
| A*30:02 | C*05:01 | 0.0126 | 5.0E-16 | 41 | 129 | 151 | 2928 | 0.0523 | 0.0591 | 0.0126 | 0.0031 |
| A*02:06 | B*39:08 | 0.0123 | 2.7E-11 | 40 | 384 | 64 | 2761 | 0.1305 | 0.032 | 0.0123 | 0.0042 |
| B*27:05 | C*02:02 | 0.0120 | 3.0E-37 | 39 | 24 | 119 | 3067 | 0.0194 | 0.0486 | 0.012 | 0.0009 |
| A*68:03 | B*35:43 | 0.0120 | 7.5E-09 | 39 | 320 | 98 | 2792 | 0.1105 | 0.0422 | 0.012 | 0.0047 |
| B*51:01 | C*14:02 | 0.0117 | 3.9E-28 | 38 | 248 | 18 | 2945 | 0.088 | 0.0172 | 0.0117 | 0.0015 |
| A*02:05 | C*07:01 | 0.0117 | 6.1E-15 | 38 | 35 | 416 | 2760 | 0.0225 | 0.1397 | 0.0117 | 0.0031 |
| B*45:01 | C*16:01 | 0.0114 | 3.4E-23 | 37 | 44 | 183 | 2985 | 0.0249 | 0.0677 | 0.0114 | 0.0017 |
| B*45:01 | C*06:02 | 0.0114 | 7.8E-21 | 37 | 44 | 218 | 2950 | 0.0249 | 0.0785 | 0.0114 | 0.002 |
| B*42:01 | C*17:01 | 0.0111 | 4.4E-51 | 36 | 5 | 71 | 3137 | 0.0126 | 0.0329 | 0.0111 | 0.0004 |
| B*51:01 | C*15:09 | 0.0111 | 9.0E-30 | 36 | 250 | 11 | 2952 | 0.088 | 0.0145 | 0.0111 | 0.0013 |
| B*15:03 | C*02:02 | 0.0111 | 1.0E-23 | 36 | 63 | 122 | 3028 | 0.0305 | 0.0486 | 0.0111 | 0.0015 |
| B*35:01 | C*07:01 | 0.0111 | 1.1E-10 | 36 | 547 | 418 | 2248 | 0.1794 | 0.1397 | 0.0111 | 0.0251 |
| A*26:01 | B*38:01 | 0.0108 | 3.1E-24 | 35 | 109 | 63 | 3042 | 0.0443 | 0.0302 | 0.0108 | 0.0013 |
| B*40:01 | C*03:04 | 0.0108 | 2.5E-23 | 35 | 11 | 372 | 2831 | 0.0142 | 0.1253 | 0.0108 | 0.0018 |
| B*57:01 | C*07:01 | 0.0108 | 6.7E-17 | 35 | 22 | 419 | 2773 | 0.0175 | 0.1397 | 0.0108 | 0.0025 |
| A*23:01 | C*06:02 | 0.0108 | 2.3E-07 | 35 | 146 | 220 | 2848 | 0.0557 | 0.0785 | 0.0108 | 0.0044 |
| B*15:10 | C*03:04 | 0.0105 | 1.2E-19 | 34 | 17 | 373 | 2825 | 0.0157 | 0.1253 | 0.0105 | 0.002 |
| A*30:02 | B*18:01 | 0.0105 | 2.0E-14 | 34 | 136 | 113 | 2966 | 0.0523 | 0.0452 | 0.0105 | 0.0024 |
| B*58:01 | C*03:02 | 0.0102 | 1.8E-36 | 33 | 51 | 37 | 3128 | 0.0259 | 0.0215 | 0.0102 | 0.0006 |
| A*30:01 | B*13:02 | 0.0102 | 4.8E-29 | 33 | 113 | 31 | 3072 | 0.0449 | 0.0197 | 0.0102 | 0.0009 |
| B*35:14 | C*04:01 | 0.0102 | 3.7E-12 | 33 | 4 | 1074 | 2138 | 0.0114 | 0.3407 | 0.0102 | 0.0039 |
| B*39:11 | C*07:02 | 0.0098 | 1.2E-16 | 32 | 0 | 1011 | 2206 | 0.0098 | 0.321 | 0.0098 | 0.0032 |
| A*01:01 | B*57:01 | 0.0095 | 8.6E-20 | 31 | 237 | 26 | 2955 | 0.0825 | 0.0175 | 0.0095 | 0.0014 |
| A*23:01 | B*15:03 | 0.0095 | 1.9E-16 | 31 | 150 | 68 | 3000 | 0.0557 | 0.0305 | 0.0095 | 0.0017 |
| B*50:01 | C*06:02 | 0.0092 | 5.7E-26 | 30 | 10 | 225 | 2984 | 0.0123 | 0.0785 | 0.0092 | 0.001 |
| B*58:02 | C*06:02 | 0.0086 | 2.7E-32 | 28 | 0 | 227 | 2994 | 0.0086 | 0.0785 | 0.0086 | 0.0007 |
| B*57:01 | C*06:02 | 0.0086 | 5.3E-17 | 28 | 29 | 227 | 2965 | 0.0175 | 0.0785 | 0.0086 | 0.0014 |
| B*14:02 | C*07:02 | 0.0086 | 1.4E-07 | 28 | 156 | 1015 | 2050 | 0.0566 | 0.321 | 0.0086 | 0.0182 |
| A*68:02 | B*53:01 | 0.0083 | 3.2E-14 | 27 | 98 | 98 | 3026 | 0.0385 | 0.0385 | 0.0083 | 0.0015 |
| B*44:03 | C*07:02 | 0.0083 | 1.9E-11 | 27 | 187 | 1016 | 2019 | 0.0659 | 0.321 | 0.0083 | 0.0211 |
| A*30:01 | B*42:01 | 0.0080 | 3.5E-26 | 26 | 120 | 15 | 3088 | 0.0449 | 0.0126 | 0.008 | 0.0006 |
| A*30:02 | C*07:02 | 0.0080 | 4.7E-07 | 26 | 144 | 1017 | 2062 | 0.0523 | 0.321 | 0.008 | 0.0168 |
| B*40:02 | C*03:06 | 0.0077 | 4.3E-20 | 25 | 357 | 4 | 2863 | 0.1176 | 0.0089 | 0.0077 | 0.001 |
| B*15:01 | C*07:02 | 0.0077 | 6.9E-10 | 25 | 166 | 1018 | 2040 | 0.0588 | 0.321 | 0.0077 | 0.0189 |
| B*55:01 | C*03:03 | 0.0074 | 6.3E-23 | 24 | 10 | 168 | 3047 | 0.0105 | 0.0591 | 0.0074 | 0.0006 |
| B*40:08 | C*03:04 | 0.0074 | 1.4E-16 | 24 | 7 | 383 | 2835 | 0.0095 | 0.1253 | 0.0074 | 0.0012 |
| B*41:01 | C*07:01 | 0.0074 | 1.2E-09 | 24 | 23 | 430 | 2772 | 0.0145 | 0.1397 | 0.0074 | 0.002 |
| B*40:02 | C*07:01 | 0.0071 | 2.6E-07 | 23 | 359 | 431 | 2436 | 0.1176 | 0.1397 | 0.0071 | 0.0164 |
| B*27:05 | C*01:02 | 0.0071 | 2.2E-06 | 23 | 40 | 409 | 2777 | 0.0194 | 0.133 | 0.0071 | 0.0026 |
| B*37:01 | C*06:02 | 0.0068 | 3.8E-22 | 22 | 3 | 233 | 2991 | 0.0077 | 0.0785 | 0.0068 | 0.0006 |
| A*25:01 | C*12:03 | 0.0068 | 9.7E-17 | 22 | 22 | 164 | 3041 | 0.0135 | 0.0572 | 0.0068 | 0.0008 |
| B*35:20 | C*04:01 | 0.0068 | 4.5E-11 | 22 | 0 | 1085 | 2142 | 0.0068 | 0.3407 | 0.0068 | 0.0023 |
| B*39:01 | C*12:03 | 0.0068 | 6.3E-07 | 22 | 98 | 164 | 2965 | 0.0369 | 0.0572 | 0.0068 | 0.0021 |
| A*68:02 | B*14:02 | 0.0068 | 1.1E-06 | 22 | 103 | 162 | 2962 | 0.0385 | 0.0566 | 0.0068 | 0.0022 |
| B*41:01 | C*17:01 | 0.0065 | 6.2E-20 | 21 | 26 | 86 | 3116 | 0.0145 | 0.0329 | 0.0065 | 0.0005 |
| A*25:01 | B*18:01 | 0.0062 | 2.5E-16 | 20 | 24 | 127 | 3078 | 0.0135 | 0.0452 | 0.0062 | 0.0006 |
| B*35:08 | C*04:01 | 0.0062 | 2.2E-07 | 20 | 3 | 1087 | 2139 | 0.0071 | 0.3407 | 0.0062 | 0.0024 |
| A*23:01 | B*49:01 | 0.0062 | 3.1E-07 | 20 | 161 | 80 | 2988 | 0.0557 | 0.0308 | 0.0062 | 0.0017 |
| B*56:01 | C*01:02 | 0.0058 | 2.6E-15 | 19 | 2 | 413 | 2815 | 0.0065 | 0.133 | 0.0058 | 0.0009 |

| | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|----|-----|------|------|--------|--------|--------|--------|
| A*23:01 | C*02:10 | 0.0058 | 4.1E-11 | 19 | 162 | 37 | 3031 | 0.0557 | 0.0172 | 0.0058 | 0.001 |
| B*57:03 | C*18:01 | 0.0055 | 5.7E-28 | 18 | 17 | 20 | 3194 | 0.0108 | 0.0117 | 0.0055 | 0.0001 |
| B*51:02 | C*08:01 | 0.0055 | 8.8E-21 | 18 | 4 | 144 | 3083 | 0.0068 | 0.0499 | 0.0055 | 0.0003 |
| B*15:30 | C*01:02 | 0.0055 | 1.8E-14 | 18 | 2 | 414 | 2815 | 0.0062 | 0.133 | 0.0055 | 0.0008 |
| B*15:17 | C*07:01 | 0.0055 | 2.7E-13 | 18 | 3 | 436 | 2792 | 0.0065 | 0.1397 | 0.0055 | 0.0009 |
| B*35:16 | C*04:01 | 0.0055 | 3.5E-09 | 18 | 0 | 1089 | 2142 | 0.0055 | 0.3407 | 0.0055 | 0.0019 |
| B*35:01 | C*08:02 | 0.0055 | 2.0E-06 | 18 | 565 | 225 | 2441 | 0.1794 | 0.0748 | 0.0055 | 0.0134 |
| A*02:05 | B*41:01 | 0.0049 | 6.6E-16 | 16 | 57 | 31 | 3145 | 0.0225 | 0.0145 | 0.0049 | 0.0003 |
| B*40:05 | C*03:04 | 0.0049 | 3.4E-13 | 16 | 2 | 391 | 2840 | 0.0055 | 0.1253 | 0.0049 | 0.0007 |
| A*68:02 | B*15:10 | 0.0049 | 2.0E-11 | 16 | 109 | 35 | 3089 | 0.0385 | 0.0157 | 0.0049 | 0.0006 |
| B*48:01 | C*08:03 | 0.0046 | 1.4E-20 | 15 | 120 | 1 | 3113 | 0.0416 | 0.0049 | 0.0046 | 0.0002 |
| B*41:02 | C*17:01 | 0.0046 | 1.6E-20 | 15 | 3 | 92 | 3139 | 0.0055 | 0.0329 | 0.0046 | 0.0002 |
| B*07:02 | C*15:05 | 0.0046 | 3.9E-08 | 15 | 260 | 20 | 2954 | 0.0846 | 0.0108 | 0.0046 | 0.0009 |
| A*74:01 | B*15:03 | 0.0043 | 6.6E-11 | 14 | 35 | 85 | 3115 | 0.0151 | 0.0305 | 0.0043 | 0.0005 |
| B*81:01 | C*18:01 | 0.0040 | 4.2E-24 | 13 | 3 | 25 | 3208 | 0.0049 | 0.0117 | 0.004 | 0.0001 |
| A*33:03 | C*03:02 | 0.0040 | 1.3E-11 | 13 | 37 | 57 | 3142 | 0.0154 | 0.0215 | 0.004 | 0.0003 |
| A*31:01 | B*51:02 | 0.0037 | 1.0E-06 | 12 | 363 | 10 | 2864 | 0.1154 | 0.0068 | 0.0037 | 0.0008 |
| A*36:01 | B*53:01 | 0.0034 | 4.5E-11 | 11 | 10 | 114 | 3114 | 0.0065 | 0.0385 | 0.0034 | 0.0002 |
| B*49:01 | C*04:01 | 0.0034 | 1.4E-07 | 11 | 89 | 1096 | 2053 | 0.0308 | 0.3407 | 0.0034 | 0.0105 |
| A*02:05 | B*58:01 | 0.0034 | 1.7E-06 | 11 | 62 | 73 | 3103 | 0.0225 | 0.0259 | 0.0034 | 0.0006 |
| B*07:05 | C*15:05 | 0.0031 | 5.4E-15 | 10 | 13 | 25 | 3201 | 0.0071 | 0.0108 | 0.0031 | 0.0001 |
| A*74:01 | C*02:10 | 0.0031 | 4.9E-09 | 10 | 39 | 46 | 3154 | 0.0151 | 0.0172 | 0.0031 | 0.0003 |
| A*33:03 | B*58:01 | 0.0031 | 3.4E-07 | 10 | 40 | 74 | 3125 | 0.0154 | 0.0259 | 0.0031 | 0.0004 |
| B*39:08 | C*07:17 | 0.0028 | 2.4E-13 | 9 | 95 | 1 | 3144 | 0.032 | 0.0031 | 0.0028 | 0.0001 |
| A*02:05 | B*50:01 | 0.0028 | 1.4E-07 | 9 | 64 | 31 | 3145 | 0.0225 | 0.0123 | 0.0028 | 0.0003 |
| A*03:01 | B*39:05 | 0.0025 | 5.4E-07 | 8 | 285 | 329 | 2627 | 0.0902 | 0.1037 | 0.0025 | 0.0094 |
| A*24:25 | B*48:01 | 0.0025 | 6.0E-07 | 8 | 12 | 127 | 3102 | 0.0062 | 0.0416 | 0.0025 | 0.0003 |
| B*40:11 | C*03:04 | 0.0025 | 2.0E-06 | 8 | 2 | 399 | 2840 | 0.0031 | 0.1253 | 0.0025 | 0.0004 |
| B*15:18 | C*07:04 | 0.0022 | 2.6E-15 | 7 | 1 | 16 | 3225 | 0.0025 | 0.0071 | 0.0022 | 0 |
| B*51:07 | C*14:02 | 0.0022 | 2.4E-12 | 7 | 1 | 49 | 3192 | 0.0025 | 0.0172 | 0.0022 | 0 |
| B*15:16 | C*14:02 | 0.0022 | 9.6E-11 | 7 | 4 | 49 | 3189 | 0.0034 | 0.0172 | 0.0022 | 0.0001 |
| B*15:39 | C*03:03 | 0.0022 | 1.7E-08 | 7 | 1 | 185 | 3056 | 0.0025 | 0.0591 | 0.0022 | 0.0001 |
| A*69:01 | B*55:01 | 0.0018 | 1.7E-10 | 6 | 4 | 28 | 3211 | 0.0031 | 0.0105 | 0.0018 | 0 |
| B*42:02 | C*17:01 | 0.0018 | 1.1E-09 | 6 | 0 | 101 | 3142 | 0.0018 | 0.0329 | 0.0018 | 0.0001 |
| A*01:02 | B*49:01 | 0.0018 | 2.0E-08 | 6 | 2 | 94 | 3147 | 0.0025 | 0.0308 | 0.0018 | 0.0001 |
| B*57:02 | C*18:01 | 0.0015 | 3.4E-09 | 5 | 2 | 33 | 3209 | 0.0022 | 0.0117 | 0.0015 | 0 |
| B*15:31 | C*04:07 | 0.0009 | 1.8E-10 | 3 | 0 | 0 | 3246 | 0.0009 | 0.0009 | 0.0009 | 0 |
| A*02:07 | B*46:01 | 0.0009 | 1.8E-09 | 3 | 0 | 2 | 3244 | 0.0009 | 0.0015 | 0.0009 | 0 |
| B*27:05 | C*07:02 | 0.0009 | 1.6E-07 | 3 | 60 | 1040 | 2146 | 0.0194 | 0.321 | 0.0009 | 0.0062 |
| B*15:09 | C*07:04 | 0.0009 | 3.1E-07 | 3 | 0 | 20 | 3226 | 0.0009 | 0.0071 | 0.0009 | 0 |
| A*11:01 | B*39:05 | 0.0009 | 8.6E-07 | 3 | 194 | 334 | 2718 | 0.0606 | 0.1037 | 0.0009 | 0.0063 |
| A*23:01 | B*39:05 | 0.0003 | 5.2E-08 | 1 | 180 | 336 | 2732 | 0.0557 | 0.1037 | 0.0003 | 0.0058 |

Tabla Suplementaria S 7. Desequilibrio de ligamiento HLA de 3-loci en la cohorte combinada MEX/CAM.

Títulos de columna igual a las mostradas en Tabla Suplementaria S3. Para cada par de alelos HLA encontrado (estadísticamente significativo) en la Tabla suplementaria S6, se usaron pruebas exactas de Fisher contra un tercer locus. Las múltiples comparaciones fueron abordadas con la corrección de Bonferroni. Número de pruebas de Fisher calculadas = N3= 11,919. Valor p significativo para las comparaciones = 0.05/N3 = 4.195e-06 para un nivel de confianza del 95%.

| HLA1 | HLA2 | HLA3 | Frecuencia Poblacional | Valor p | Todos | Sólo HLA1&HLA2 | Sólo HLA3 | Ninguno | P(HLA1 & HLA2) | P(HLA3) | P(HLA1 & HLA2 & HLA3) | E(P(HLA1 & HLA2 & HLA3)) |
|---------|---------|---------|------------------------|---------|-------|----------------|-----------|---------|----------------|---------|-----------------------|--------------------------|
| A*68:03 | B*35:43 | C*07:02 | 0.0714 | 3.1E-41 | 232 | 127 | 811 | 2079 | 0.1105 | 0.321 | 0.0714 | 0.0355 |
| A*02:06 | B*39:05 | C*07:02 | 0.0634 | 4.3E-14 | 206 | 218 | 837 | 1988 | 0.1305 | 0.321 | 0.0634 | 0.0419 |
| A*02:06 | B*39:08 | C*07:02 | 0.0634 | 4.3E-14 | 206 | 218 | 837 | 1988 | 0.1305 | 0.321 | 0.0634 | 0.0419 |
| B*40:02 | C*03:04 | A*24:02 | 0.0563 | 2.8E-19 | 183 | 199 | 717 | 2150 | 0.1176 | 0.277 | 0.0563 | 0.0326 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|---------|--------|---------|-----|------|------|------|--------|--------|--------|--------|
| B*40:02 | C*03:06 | A*24:02 | 0.0563 | 2.8E-19 | 183 | 199 | 717 | 2150 | 0.1176 | 0.277 | 0.0563 | 0.0326 |
| B*40:02 | C*04:01 | A*24:02 | 0.0563 | 2.8E-19 | 183 | 199 | 717 | 2150 | 0.1176 | 0.277 | 0.0563 | 0.0326 |
| B*40:02 | C*07:01 | A*24:02 | 0.0563 | 2.8E-19 | 183 | 199 | 717 | 2150 | 0.1176 | 0.277 | 0.0563 | 0.0326 |
| B*40:02 | C*07:02 | A*24:02 | 0.0563 | 2.8E-19 | 183 | 199 | 717 | 2150 | 0.1176 | 0.277 | 0.0563 | 0.0326 |
| A*02:01 | C*03:03 | B*35:12 | 0.0517 | 6.3E-24 | 168 | 990 | 89 | 2002 | 0.3564 | 0.0791 | 0.0517 | 0.0282 |
| B*35:12 | C*04:01 | A*02:01 | 0.0517 | 6.3E-24 | 168 | 89 | 990 | 2002 | 0.0791 | 0.3564 | 0.0517 | 0.0282 |
| A*68:03 | C*07:02 | B*39:05 | 0.0468 | 2.8E-67 | 152 | 207 | 185 | 2705 | 0.1105 | 0.1037 | 0.0468 | 0.0115 |
| A*24:02 | B*39:06 | C*03:05 | 0.0400 | 1.5E-26 | 130 | 770 | 81 | 2268 | 0.277 | 0.0649 | 0.04 | 0.018 |
| A*24:02 | B*40:02 | C*03:05 | 0.0400 | 1.5E-26 | 130 | 770 | 81 | 2268 | 0.277 | 0.0649 | 0.04 | 0.018 |
| A*01:01 | B*57:01 | C*07:01 | 0.0369 | 1.7E-38 | 120 | 148 | 334 | 2647 | 0.0825 | 0.1397 | 0.0369 | 0.0115 |
| A*02:01 | B*35:17 | C*03:03 | 0.0314 | 3.5E-07 | 102 | 1056 | 90 | 2001 | 0.3564 | 0.0591 | 0.0314 | 0.0211 |
| A*02:01 | B*44:02 | C*03:03 | 0.0314 | 3.5E-07 | 102 | 1056 | 90 | 2001 | 0.3564 | 0.0591 | 0.0314 | 0.0211 |
| B*39:06 | C*07:02 | A*24:02 | 0.0299 | 2.2E-26 | 97 | 41 | 803 | 2308 | 0.0425 | 0.277 | 0.0299 | 0.0118 |
| A*02:06 | C*08:01 | B*39:05 | 0.0280 | 3.1E-13 | 91 | 333 | 246 | 2579 | 0.1305 | 0.1037 | 0.028 | 0.0135 |
| A*29:02 | B*44:03 | C*16:01 | 0.0274 | 4.3E-68 | 89 | 71 | 131 | 2958 | 0.0492 | 0.0677 | 0.0274 | 0.0033 |
| B*07:02 | C*04:01 | A*03:01 | 0.0265 | 7.1E-29 | 86 | 189 | 207 | 2767 | 0.0846 | 0.0902 | 0.0265 | 0.0076 |
| B*07:02 | C*07:02 | A*03:01 | 0.0265 | 7.1E-29 | 86 | 189 | 207 | 2767 | 0.0846 | 0.0902 | 0.0265 | 0.0076 |
| B*07:02 | C*15:05 | A*03:01 | 0.0265 | 7.1E-29 | 86 | 189 | 207 | 2767 | 0.0846 | 0.0902 | 0.0265 | 0.0076 |
| B*44:03 | C*07:02 | A*29:02 | 0.0249 | 4.3E-58 | 81 | 133 | 79 | 2956 | 0.0659 | 0.0492 | 0.0249 | 0.0032 |
| B*35:17 | C*04:01 | A*02:01 | 0.0237 | 1.3E-06 | 77 | 62 | 1081 | 2029 | 0.0428 | 0.3564 | 0.0237 | 0.0152 |
| A*01:01 | C*06:02 | B*08:01 | 0.0222 | 3.3E-40 | 72 | 196 | 82 | 2899 | 0.0825 | 0.0474 | 0.0222 | 0.0039 |
| A*01:01 | C*07:01 | B*08:01 | 0.0222 | 3.3E-40 | 72 | 196 | 82 | 2899 | 0.0825 | 0.0474 | 0.0222 | 0.0039 |
| A*01:01 | C*07:02 | B*08:01 | 0.0222 | 3.3E-40 | 72 | 196 | 82 | 2899 | 0.0825 | 0.0474 | 0.0222 | 0.0039 |
| B*14:02 | C*07:02 | A*33:01 | 0.0191 | 2.3E-51 | 62 | 122 | 50 | 3015 | 0.0566 | 0.0345 | 0.0191 | 0.002 |
| A*33:01 | C*08:02 | B*14:02 | 0.0191 | 2.3E-51 | 62 | 50 | 122 | 3015 | 0.0345 | 0.0566 | 0.0191 | 0.002 |
| B*44:02 | C*05:01 | A*02:01 | 0.0188 | 4.0E-07 | 61 | 40 | 1097 | 2051 | 0.0311 | 0.3564 | 0.0188 | 0.0111 |
| B*15:15 | C*01:02 | A*02:01 | 0.0179 | 1.1E-13 | 58 | 17 | 1100 | 2074 | 0.0231 | 0.3564 | 0.0179 | 0.0082 |
| A*02:01 | C*03:03 | B*15:15 | 0.0179 | 1.1E-13 | 58 | 1100 | 17 | 2074 | 0.3564 | 0.0231 | 0.0179 | 0.0082 |
| A*30:01 | B*13:02 | C*17:01 | 0.0139 | 7.3E-35 | 45 | 101 | 62 | 3041 | 0.0449 | 0.0329 | 0.0139 | 0.0015 |
| A*30:01 | B*42:01 | C*17:01 | 0.0139 | 7.3E-35 | 45 | 101 | 62 | 3041 | 0.0449 | 0.0329 | 0.0139 | 0.0015 |
| A*30:02 | B*18:01 | C*05:01 | 0.0126 | 5.0E-16 | 41 | 129 | 151 | 2928 | 0.0523 | 0.0591 | 0.0126 | 0.0031 |
| B*39:08 | C*07:17 | A*02:06 | 0.0123 | 2.7E-11 | 40 | 64 | 384 | 2761 | 0.032 | 0.1305 | 0.0123 | 0.0042 |
| A*02:06 | C*08:01 | B*39:08 | 0.0123 | 2.7E-11 | 40 | 384 | 64 | 2761 | 0.1305 | 0.032 | 0.0123 | 0.0042 |
| A*24:02 | B*39:06 | C*06:02 | 0.0123 | 3.8E-06 | 40 | 860 | 215 | 2134 | 0.277 | 0.0785 | 0.0123 | 0.0217 |
| A*24:02 | B*40:02 | C*06:02 | 0.0123 | 3.8E-06 | 40 | 860 | 215 | 2134 | 0.277 | 0.0785 | 0.0123 | 0.0217 |
| B*35:43 | C*01:02 | A*68:03 | 0.0120 | 7.5E-09 | 39 | 98 | 320 | 2792 | 0.0422 | 0.1105 | 0.012 | 0.0047 |
| A*02:05 | B*50:01 | C*07:01 | 0.0117 | 6.1E-15 | 38 | 35 | 416 | 2760 | 0.0225 | 0.1397 | 0.0117 | 0.0031 |
| A*02:05 | B*58:01 | C*07:01 | 0.0117 | 6.1E-15 | 38 | 35 | 416 | 2760 | 0.0225 | 0.1397 | 0.0117 | 0.0031 |
| A*23:01 | B*49:01 | C*06:02 | 0.0108 | 2.3E-07 | 35 | 146 | 220 | 2848 | 0.0557 | 0.0785 | 0.0108 | 0.0044 |
| A*26:01 | C*12:03 | B*38:01 | 0.0108 | 3.1E-24 | 35 | 109 | 63 | 3042 | 0.0443 | 0.0302 | 0.0108 | 0.0013 |
| A*30:02 | C*07:02 | B*18:01 | 0.0105 | 2.0E-14 | 34 | 136 | 113 | 2966 | 0.0523 | 0.0452 | 0.0105 | 0.0024 |
| B*18:01 | C*12:03 | A*30:02 | 0.0105 | 2.0E-14 | 34 | 113 | 136 | 2966 | 0.0452 | 0.0523 | 0.0105 | 0.0024 |
| A*30:01 | C*06:02 | B*13:02 | 0.0102 | 4.8E-29 | 33 | 113 | 31 | 3072 | 0.0449 | 0.0197 | 0.0102 | 0.0009 |
| B*57:01 | C*06:02 | A*01:01 | 0.0095 | 8.6E-20 | 31 | 26 | 237 | 2955 | 0.0175 | 0.0825 | 0.0095 | 0.0014 |
| A*01:01 | C*07:02 | B*57:01 | 0.0095 | 8.6E-20 | 31 | 237 | 26 | 2955 | 0.0825 | 0.0175 | 0.0095 | 0.0014 |
| B*15:03 | C*02:02 | A*23:01 | 0.0095 | 1.9E-16 | 31 | 68 | 150 | 3000 | 0.0305 | 0.0557 | 0.0095 | 0.0017 |
| B*15:03 | C*02:10 | A*23:01 | 0.0095 | 1.9E-16 | 31 | 68 | 150 | 3000 | 0.0305 | 0.0557 | 0.0095 | 0.0017 |
| A*23:01 | C*06:02 | B*15:03 | 0.0095 | 1.9E-16 | 31 | 150 | 68 | 3000 | 0.0557 | 0.0305 | 0.0095 | 0.0017 |
| B*53:01 | C*04:01 | A*68:02 | 0.0083 | 3.2E-14 | 27 | 98 | 98 | 3026 | 0.0385 | 0.0385 | 0.0083 | 0.0015 |
| A*30:01 | C*06:02 | B*42:01 | 0.0080 | 3.5E-26 | 26 | 120 | 15 | 3088 | 0.0449 | 0.0126 | 0.008 | 0.0006 |
| A*68:02 | B*15:10 | C*08:02 | 0.0077 | 3.2E-06 | 25 | 100 | 218 | 2906 | 0.0385 | 0.0748 | 0.0077 | 0.0029 |
| A*68:02 | B*53:01 | C*08:02 | 0.0077 | 3.2E-06 | 25 | 100 | 218 | 2906 | 0.0385 | 0.0748 | 0.0077 | 0.0029 |
| A*68:03 | B*35:43 | C*07:01 | 0.0071 | 3.4E-06 | 23 | 336 | 431 | 2459 | 0.1105 | 0.1397 | 0.0071 | 0.0154 |
| A*68:03 | B*39:05 | C*07:01 | 0.0071 | 3.4E-06 | 23 | 336 | 431 | 2459 | 0.1105 | 0.1397 | 0.0071 | 0.0154 |
| A*25:01 | B*18:01 | C*12:03 | 0.0068 | 9.7E-17 | 22 | 22 | 164 | 3041 | 0.0135 | 0.0572 | 0.0068 | 0.0008 |
| B*14:02 | C*07:02 | A*68:02 | 0.0068 | 1.1E-06 | 22 | 162 | 103 | 2962 | 0.0566 | 0.0385 | 0.0068 | 0.0022 |
| B*14:02 | C*08:02 | A*68:02 | 0.0068 | 1.1E-06 | 22 | 162 | 103 | 2962 | 0.0566 | 0.0385 | 0.0068 | 0.0022 |
| B*49:01 | C*04:01 | A*23:01 | 0.0062 | 3.1E-07 | 20 | 80 | 161 | 2988 | 0.0308 | 0.0557 | 0.0062 | 0.0017 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|---------|--------|---------|----|-----|-----|------|--------|--------|--------|--------|
| B*49:01 | C*07:01 | A*23:01 | 0.0062 | 3.1E-07 | 20 | 80 | 161 | 2988 | 0.0308 | 0.0557 | 0.0062 | 0.0017 |
| B*18:01 | C*05:01 | A*25:01 | 0.0062 | 2.5E-16 | 20 | 127 | 24 | 3078 | 0.0452 | 0.0135 | 0.0062 | 0.0006 |
| A*23:01 | B*39:05 | C*02:10 | 0.0058 | 4.1E-11 | 19 | 162 | 37 | 3031 | 0.0557 | 0.0172 | 0.0058 | 0.001 |
| A*23:01 | B*49:01 | C*02:10 | 0.0058 | 4.1E-11 | 19 | 162 | 37 | 3031 | 0.0557 | 0.0172 | 0.0058 | 0.001 |
| B*41:01 | C*07:01 | A*02:05 | 0.0049 | 6.6E-16 | 16 | 31 | 57 | 3145 | 0.0145 | 0.0225 | 0.0049 | 0.0003 |
| B*41:01 | C*17:01 | A*02:05 | 0.0049 | 6.6E-16 | 16 | 31 | 57 | 3145 | 0.0145 | 0.0225 | 0.0049 | 0.0003 |
| B*15:10 | C*03:04 | A*68:02 | 0.0049 | 2.0E-11 | 16 | 35 | 109 | 3089 | 0.0157 | 0.0385 | 0.0049 | 0.0006 |
| B*15:03 | C*02:02 | A*74:01 | 0.0043 | 6.6E-11 | 14 | 85 | 35 | 3115 | 0.0305 | 0.0151 | 0.0043 | 0.0005 |
| A*74:01 | C*02:10 | B*15:03 | 0.0043 | 6.6E-11 | 14 | 35 | 85 | 3115 | 0.0151 | 0.0305 | 0.0043 | 0.0005 |
| A*33:03 | B*58:01 | C*03:02 | 0.0040 | 1.3E-11 | 13 | 37 | 57 | 3142 | 0.0154 | 0.0215 | 0.004 | 0.0003 |
| B*51:02 | C*08:01 | A*31:01 | 0.0037 | 1.0E-06 | 12 | 10 | 363 | 2864 | 0.0068 | 0.1154 | 0.0037 | 0.0008 |
| B*58:01 | C*03:02 | A*02:05 | 0.0034 | 1.7E-06 | 11 | 73 | 62 | 3103 | 0.0259 | 0.0225 | 0.0034 | 0.0006 |
| B*14:01 | C*08:02 | A*32:01 | 0.0034 | 3.8E-06 | 11 | 49 | 100 | 3089 | 0.0185 | 0.0342 | 0.0034 | 0.0006 |
| B*53:01 | C*04:01 | A*36:01 | 0.0034 | 4.5E-11 | 11 | 114 | 10 | 3114 | 0.0385 | 0.0065 | 0.0034 | 0.0002 |
| B*58:01 | C*07:01 | A*33:03 | 0.0031 | 3.4E-07 | 10 | 74 | 40 | 3125 | 0.0259 | 0.0154 | 0.0031 | 0.0004 |
| B*50:01 | C*06:02 | A*02:05 | 0.0028 | 1.4E-07 | 9 | 31 | 64 | 3145 | 0.0123 | 0.0225 | 0.0028 | 0.0003 |
| B*39:05 | C*07:02 | A*03:01 | 0.0025 | 5.4E-07 | 8 | 329 | 285 | 2627 | 0.1037 | 0.0902 | 0.0025 | 0.0094 |
| B*48:01 | C*08:01 | A*24:25 | 0.0025 | 6.0E-07 | 8 | 127 | 12 | 3102 | 0.0416 | 0.0062 | 0.0025 | 0.0003 |
| B*48:01 | C*08:03 | A*24:25 | 0.0025 | 6.0E-07 | 8 | 127 | 12 | 3102 | 0.0416 | 0.0062 | 0.0025 | 0.0003 |
| B*49:01 | C*04:01 | A*01:02 | 0.0018 | 2.0E-08 | 6 | 94 | 2 | 3147 | 0.0308 | 0.0025 | 0.0018 | 0.0001 |
| B*49:01 | C*07:01 | A*01:02 | 0.0018 | 2.0E-08 | 6 | 94 | 2 | 3147 | 0.0308 | 0.0025 | 0.0018 | 0.0001 |
| B*55:01 | C*03:03 | A*69:01 | 0.0018 | 1.7E-10 | 6 | 28 | 4 | 3211 | 0.0105 | 0.0031 | 0.0018 | 0 |
| B*39:05 | C*07:02 | A*11:01 | 0.0009 | 8.6E-07 | 3 | 334 | 194 | 2718 | 0.1037 | 0.0606 | 0.0009 | 0.0063 |
| A*23:01 | C*06:02 | B*39:05 | 0.0003 | 5.2E-08 | 1 | 180 | 336 | 2732 | 0.0557 | 0.1037 | 0.0003 | 0.0058 |
| B*39:05 | C*07:02 | A*23:01 | 0.0003 | 5.2E-08 | 1 | 336 | 180 | 2732 | 0.1037 | 0.0557 | 0.0003 | 0.0058 |

Tabla Suplementaria S9. Resumen de análisis multivariable en la cohorte combinada MEX/CAM (tabla superior) y las cohortes individuales (tablas inferiores).

Se construyeron modelos independientes para relacionar cada alelo HLA a cada parámetro clínico de VIH, mientras que se ajustó para el género, la edad, el origen geográfico de reclutamiento (país/región codificado como variables binarias n-1) y por el efecto las asociaciones HLA más significativas (definidas como los alelos HLA con p<0.001 en el análisis univariable por Mann-Whitney correspondientes). De acuerdo con lo anterior, los modelos de MEX/CAM fueron ajustados con los siguientes alelos, CVp: B*57:03, C*18:01, C*04:01, B*57:01, A*30:02, B*35:12, B*27:05, C*07:02, A*68:01; CD4: B*27:05, A*03:01, C*07:02, A*68:03, B*39:05, C*08:02, B*35:12, A*02:05, B*14:02, C*18:01; Z-score: B*57:03, C*18:01, B*27:05, C*07:02, B*39:05, B*35:12, B*57:01, B*14:02, C*08:02, C*04:01, A*68:03, A*03:01, A*68:01; %CD4: B*27:05, A*68:03, B*39:05, B*57:01, C*07:02; CD4/CD8 ratio: B*27:05, B*57:01, A*68:03, C*07:02, B*39:05, B*42:01, C*18:01. Los modelos de MEX fueron ajustados con los siguientes alelos, CVp: B*27:05, C*08:02, B*14:02, B5701; CD4: B*27:05, C*08:02; Z-score: B*27:05, B*14:02, C*08:02; %CD4: B*27:05, B*39:05, C*08:02, B*14:02, C*07:02; CD4/CD8 ratio: B*27:05, B*39:05, A*68:03. Los modelos de CAM fueron ajustados con los siguientes alelos, CVp: B*35:12, A*30:02, C*18:01, C*04:01, B*57:03; CD4: B*39:05, A*68:03, A*68:01, C*18:01; Z-score: C*18:01, B*35:12, B*57:03, A*68:01, A*68:03; %CD4: A*68:03; CD4/CD8 ratio: A*68:03, B*42:01, A*68:01. Las asociaciones fueron evaluadas usando regresiones lineales (Modelo Linear Generalizado, GLM) y las múltiples comparaciones fueron abordadas con valores q. Las asociaciones significativas (p<0.05, q<0.2) se muestran en negritas. Para GLM, se muestran los coeficientes y los intervalos de confianza de 95% (IC 95%).

| Análisis MULTIVARIABLE de la cohorte combinada MEX/CAM (n=3213) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|-----|---|---|---|-----|---------|------|------------------------------------|----------------|----------------|--------|-----------------|---------|----------------|----------------|---------|----------|---------|----------------|---------------------|---------|---------|-------|------------------|----------------|---------|--------|--------|----------------|----------------|--------|--------|-------|
| Resultado a la progresión por VIH | ALELO | N | Score HLA-VIH basado en 5 parámetros (CVp, CD4, Z-score, %CD4, CD4/CD8) | Score HLA-VIH basado en 2 parámetros (CVp, CD4) | Asociaciones HLA con el Modelo Linear Generalizado o GLM ajustados por variables confusoras (•, p<0.05 & q<0.2) | | | | Carga Viral de VIH en plasma (CVp) | | | | Conteo de T CD4 | | | | Z-score | | | | Porcentaje de T CD4 | | | | Cociente CD4/CD8 | | | | | | | | | |
| | | | | | CVp | CD4 | Z-score | %CD4 | CD4/CD8 | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asociaciones HLA-VIH de PROTECCIÓN | A*02:05 | 71 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 1.7E-01 | 2.5E-01 | -0.158 | -0.384 | 0.068 | 1.0E-05 | 1.6E-05 | 137.171 | 73.919 | 200.423 | 2.0E-03 | 1.9E-03 | 0.304 | 0.108 | 0.501 | 1.7E-02 | 1.9E-02 | 2.769 | 0.505 | 5.033 | 2.7E-01 | 7.5E-02 | 0.045 | -0.034 | 0.124 |
| | A*02:06 | 441 | 1 | 1 | • | • | • | • | • | 2.1E-02 | 6.5E-02 | -0.119 | -0.220 | -0.018 | 1.0E-01 | 2.3E-02 | -24.062 | -52.778 | 4.654 | 6.7E-01 | 7.9E-02 | 0.020 | -0.070 | 0.109 | 1.9E-01 | 8.1E-02 | -0.695 | -1.723 | 0.333 | 6.3E-02 | 4.0E-02 | -0.033 | -0.068 | 0.002 |
| | A*03:01 | 299 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 2.7E-01 | 3.3E-01 | -0.066 | -0.183 | 0.051 | 1.0E-05 | 1.6E-05 | 62.509 | 29.394 | 95.624 | 1.8E-02 | 9.5E-03 | 0.124 | 0.021 | 0.227 | 7.0E-03 | 1.1E-02 | 1.644 | 0.456 | 2.831 | 8.4E-02 | 4.5E-02 | 0.036 | -0.005 | 0.076 |
| | A*11:01 | 202 | 1 | 1 | • | • | • | • | • | 4.0E-01 | 4.4E-01 | -0.060 | -0.200 | 0.079 | 1.5E-02 | 7.8E-03 | 48.378 | 9.326 | 87.429 | 1.4E-01 | 2.5E-02 | 0.092 | -0.029 | 0.214 | 1.6E-01 | 7.2E-02 | 1.014 | -0.387 | 2.416 | 2.5E-01 | 7.3E-02 | 0.028 | -0.020 | 0.076 |
| | A*25:01 | 44 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 5.6E-01 | 5.4E-01 | -0.085 | -0.368 | 0.199 | 5.0E-03 | 3.9E-03 | 113.640 | 34.278 | 193.002 | 5.0E-02 | 1.7E-02 | 0.247 | 0.000 | 0.494 | 1.2E-02 | 1.5E-02 | 3.623 | 0.781 | 6.466 | 9.0E-03 | 1.0E-02 | 0.130 | 0.033 | 0.226 |
| | A*26:01 | 143 | 1 | 1 | • | • | • | • | • | 3.9E-01 | 4.4E-01 | -0.071 | -0.234 | 0.092 | 2.6E-02 | 9.9E-03 | 51.819 | 6.202 | 97.436 | 1.0E-01 | 2.4E-02 | 0.118 | -0.024 | 0.260 | 3.0E-01 | 1.2E-01 | 0.859 | -0.775 | 2.494 | 7.9E-01 | 1.6E-01 | 0.008 | -0.048 | 0.063 |
| | A*30:02 | 171 | 1 | 1 | • | • | • | • | • | 1.4E-02 | 5.5E-02 | -0.189 | -0.340 | -0.039 | 4.8E-01 | 6.9E-02 | 15.084 | -27.131 | 57.299 | 1.6E-01 | 2.6E-02 | 0.095 | -0.036 | 0.227 | 5.4E-01 | 1.9E-01 | 0.477 | -1.035 | 1.989 | 6.2E-01 | 1.3E-01 | 0.013 | -0.039 | 0.065 |
| | B*07:02 | 301 | 2 | 1 | • | • | • | • | • | 2.6E-01 | 3.2E-01 | -0.075 | -0.203 | 0.054 | 7.0E-03 | 4.9E-03 | 52.651 | 14.196 | 91.105 | 8.1E-02 | 2.0E-02 | 0.107 | -0.013 | 0.227 | 4.0E-02 | 3.2E-02 | 1.420 | 0.067 | 2.774 | 4.0E-01 | 1.0E-01 | 0.020 | -0.026 | 0.066 |
| | B*14:02 | 189 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 7.0E-03 | 4.0E-02 | -0.201 | -0.346 | -0.056 | 1.6E-01 | 2.9E-02 | 45.733 | -17.874 | 109.340 | 1.3E-01 | 2.5E-02 | 0.153 | -0.044 | 0.351 | 1.0E-05 | 4.2E-05 | 2.624 | 1.167 | 4.082 | 1.4E-02 | 1.4E-02 | 0.063 | 0.013 | 0.113 |
| | B*15:39 | 8 | 4 | 2 | • | • | • | • | • | 1.0E-03 | 1.0E-02 | -1.164 | -1.824 | -0.504 | 2.7E-02 | 9.9E-03 | 209.068 | 24.219 | 393.917 | 1.0E-03 | 1.5E-03 | 0.958 | 0.384 | 1.533 | 6.4E-02 | 4.3E-02 | 6.264 | -0.363 | 12.890 | 4.4E-02 | 3.3E-02 | 0.232 | 0.006 | 0.458 |
| | B*27:05 | 65 | 5 | 2 | • | • | • | • | • | 1.0E-05 | 2.0E-04 | -0.529 | -0.768 | -0.289 | 1.0E-05 | 1.6E-05 | 203.067 | 136.197 | 269.937 | 1.0E-05 | 2.9E-05 | 0.630 | 0.422 | 0.839 | 1.0E-05 | 4.2E-05 | 7.438 | 5.045 | 9.832 | 1.0E-05 | 2.5E-05 | 0.242 | 0.160 | 0.323 |
| | B*39:02 | 98 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 2.8E-02 | 7.5E-02 | -0.222 | -0.419 | -0.025 | 2.3E-01 | 3.9E-02 | 34.246 | -21.586 | 90.078 | 5.4E-02 | 1.7E-02 | 0.171 | -0.003 | 0.344 | 3.0E-02 | 2.5E-02 | 2.228 | 0.221 | 4.236 | 2.0E-03 | 2.9E-03 | 0.111 | 0.042 | 0.179 |
| | B*40:05 | 18 | 1 | 1 | • | • | • | • | • | 9.2E-01 | 7.8E-01 | 0.023 | -0.432 | 0.478 | 2.1E-02 | 9.2E-03 | 149.796 | 22.592 | 277.000 | 2.1E-01 | 3.2E-02 | 0.252 | -0.144 | 0.649 | 1.2E-01 | 5.9E-02 | 3.659 | -0.901 | 8.218 | 4.0E-01 | 1.0E-01 | 0.067 | -0.089 | 0.223 |
| | B*40:06 | 8 | 2 | 1 | • | • | • | • | • | 2.8E-01 | 3.4E-01 | -0.388 | -1.098 | 0.321 | 1.7E-02 | 8.2E-03 | 242.866 | 44.258 | 441.473 | 3.8E-02 | 1.6E-02 | 0.653 | 0.036 | 1.271 | 2.7E-01 | 1.1E-01 | 3.988 | -3.130 | 11.105 | 5.8E-01 | 1.3E-01 | 0.069 | -0.174 | 0.312 |
| | B*42:01 | 42 | 2 | 0 | • | • | • | • | • | 1.7E-01 | 2.5E-01 | -0.205 | -0.501 | 0.090 | 5.6E-02 | 1.6E-02 | 81.431 | -2.180 | 165.042 | 6.5E-02 | 1.8E-02 | 0.245 | -0.015 | 0.505 | 5.0E-03 | 9.3E-03 | 4.293 | 1.300 | 7.285 | 1.0E-03 | 1.7E-03 | 0.169 | 0.066 | 0.273 |
| | B*44:03 | 221 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 9.7E-01 | 7.8E-01 | 0.002 | -0.133 | 0.138 | 5.6E-01 | 7.8E-02 | 11.195 | -26.880 | 49.269 | 7.7E-01 | 8.9E-02 | 0.018 | -0.101 | 0.136 | 3.3E-01 | 1.3E-01 | 0.676 | -0.687 | 2.040 | 7.3E-02 | 4.4E-02 | 0.043 | -0.004 | 0.089 |
| | B*57:01 | 61 | 5 | 2 | • | • | • | • | • | 1.0E-05 | 2.0E-04 | -0.588 | -0.842 | -0.333 | 1.0E-05 | 1.6E-05 | 133.403 | 62.381 | 204.425 | 1.0E-05 | 2.9E-05 | 0.531 | 0.310 | 0.753 | 1.0E-05 | 4.2E-05 | 5.259 | 2.709 | 7.808 | 1.0E-05 | 2.5E-05 | 0.234 | 0.148 | 0.321 |
| | B*57:02 | 7 | 2 | 0 | • | • | • | • | • | 9.6E-01 | 7.8E-01 | 0.020 | -0.737 | 0.776 | 6.3E-01 | 8.5E-02 | 51.714 | -156.487 | 259.915 | 5.9E-01 | 7.2E-02 | 0.180 | -0.477 | 0.838 | 3.0E-03 | 8.4E-03 | 10.840 | 3.755 | 17.925 | 1.0E-05 | 2.5E-05 | 0.595 | 0.325 | 0.866 |
| | B*57:03 | 38 | 4 | 2 | • | • | • | • | • | 1.0E-03 | 1.0E-02 | -0.604 | -0.972 | -0.235 | 2.2E-02 | 9.2E-03 | 119.893 | 16.950 | 222.836 | 1.0E-03 | 1.5E-03 | 0.535 | 0.215 | 0.855 | 1.1E-02 | 1.5E-02 | 4.279 | 1.001 | 7.558 | 1.8E-01 | 6.4E-02 | 0.087 | -0.039 | 0.213 |
| | B*58:01 | 85 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 4.2E-01 | 4.5E-01 | -0.087 | -0.296 | 0.122 | 5.7E-01 | 7.8E-02 | 16.968 | -41.991 | 75.928 | 2.9E-01 | 4.2E-02 | 0.098 | -0.084 | 0.280 | 5.1E-01 | 1.9E-01 | 0.704 | -1.392 | 2.800 | 8.8E-01 | 1.8E-01 | -0.005 | -0.077 | 0.066 |
| | C*02:02 | 162 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 5.3E-01 | 5.3E-01 | -0.054 | -0.221 | 0.114 | 6.8E-01 | 9.7E-02 | 9.769 | -37.151 | 56.688 | 5.4E-01 | 6.8E-02 | 0.046 | -0.100 | 0.192 | 4.5E-01 | 1.7E-01 | 0.653 | -1.026 | 2.331 | 2.2E-01 | 7.0E-02 | 0.036 | -0.022 | 0.093 |
| | C*03:02 | 71 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 8.5E-01 | 7.5E-01 | -0.022 | -0.253 | 0.209 | 6.5E-01 | 8.5E-02 | 15.035 | -49.495 | 79.565 | 7.8E-01 | 1.1E-01 | 0.029 | -0.172 | 0.230 | 8.4E-01 | 2.9E-01 | 0.244 | -2.065 | 2.554 | 6.2E-01 | 1.3E-01 | -0.020 | -0.099 | 0.059 |
| | C*03:05 | 222 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 1.8E-01 | 2.5E-01 | -0.094 | -0.230 | 0.042 | 7.7E-01 | 1.2E-01 | -5.748 | -44.136 | 32.639 | 4.7E-01 | 6.4E-02 | 0.044 | -0.076 | 0.164 | 9.6E-01 | 3.2E-01 | -0.037 | -1.407 | 1.333 | 7.2E-01 | 1.6E-01 | 0.007 | -0.040 | 0.054 |
| | C*08:01 | 160 | 1 | 0 | • | • | • | • | • | 9.8E-02 | 1.9E-01 | -0.133 | -0.291 | 0.025 | 4.7E-01 | 6.8E-02 | 16.228 | -27.847 | 60.302 | 1.6E-01 | 2.6E-02 | 0.099 | -0.039 | 0.237 | 8.6E-02 | 4.8E-02 | 1.384 | -0.194 | 2.962 | 2.8E-02 | 2.4E-02 | 0.060 | 0.006 | 0.115 |
| | C*08:02 | 246 | 4 | 2 | • | • | • | • | • | 9.0E-03 | 4.0E-02 | -0.172 | -0.301 | -0.043 | 4.9E-02 | 1.6E-02 | 56.555 | 0.131 | 112.980 | 1.1E-01 | 2.4E-02 | 0.143 | -0.033 | 0.319 | 1.0E-05 | 4.2E-05 | 2.421 | 1.129 | 3.713 | 2.3E-02 | 2.1E-02 | 0.051 | 0.007 | 0.095 |
| | C*12:02 | 67 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 7.1E-02 | 1.5E-01 | -0.216 | -0.451 | 0.019 | 3.2E-01 | 4.9E-02 | 33.158 | -32.509 | 98.825 | 1.1E-01 | 2.4E-02 | 0.166 | -0.039 | 0.370 | 1.0E-05 | 6.9E-02 | 1.753 | -0.598 | 4.104 | 1.9E-01 | 6.4E-02 | 0.054 | -0.027 | 0.135 |
| | C*12:03 | 189 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 1.8E-01 | 2.5E-01 | -0.099 | -0.244 | 0.045 | 4.0E-03 | 3.6E-03 | 59.418 | 18.972 | 99.864 | 1.1E-02 | 7.1E-03 | 0.163 | 0.037 | 0.290 | 2.3E-02 | 2. | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------|------|----|----|--|---|---|---|---|---------|---------|--------|--------|-------|---------|---------|----------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|
| | C*17:01 | 106 | 0 | 0 | | | | | | 9.3E-01 | 7.8E-01 | 0.009 | -0.180 | 0.198 | 1.5E-01 | 2.9E-02 | 39.029 | -13.886 | 91.943 | 5.3E-01 | 6.8E-02 | 0.053 | -0.112 | 0.219 | 1.8E-01 | 7.9E-02 | 1.311 | -0.584 | 3.205 | 4.5E-01 | 1.1E-01 | -0.030 | -0.107 | 0.048 |
| | C*18:01 | 37 | 4 | 1 | | • | • | • | • | 8.4E-02 | 1.7E-01 | -0.312 | -0.666 | 0.041 | 1.0E-03 | 1.3E-03 | 149.939 | 61.968 | 237.911 | 2.8E-02 | 1.3E-02 | 0.346 | 0.038 | 0.653 | 1.0E-03 | 3.3E-03 | 5.363 | 2.216 | 8.509 | 1.0E-05 | 2.5E-05 | 0.299 | 0.190 | 0.408 |
| Asociaciones HLA-VIH de RIESGO | A*01:02 | 8 | -2 | -1 | | • | • | | | 5.0E-03 | 3.4E-02 | 0.950 | 0.289 | 1.611 | 1.4E-01 | 2.8E-02 | -139.058 | -324.166 | 46.050 | 1.5E-02 | 8.7E-03 | -0.715 | -1.290 | -0.140 | 2.7E-01 | 1.1E-01 | -3.754 | -10.385 | 2.878 | 1.6E-01 | 6.3E-02 | -0.175 | -0.416 | 0.066 |
| | A*02:01 | 1278 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 5.3E-01 | 5.3E-01 | 0.023 | -0.049 | 0.094 | 2.5E-01 | 4.2E-02 | -11.795 | -32.015 | 8.425 | 1.9E-01 | 3.1E-02 | -0.042 | -0.106 | 0.021 | 6.9E-02 | 4.3E-02 | -0.657 | -1.364 | 0.050 | 1.4E-01 | 6.1E-02 | -0.018 | -0.042 | 0.006 |
| | A*24:02 | 966 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 5.0E-02 | 1.2E-01 | 0.075 | 0.000 | 0.150 | 4.4E-01 | 6.6E-02 | -8.307 | -29.492 | 12.878 | 6.4E-02 | 1.8E-02 | -0.063 | -0.129 | 0.004 | 7.7E-01 | 2.7E-01 | -0.111 | -0.864 | 0.641 | 4.0E-01 | 1.0E-01 | 0.011 | -0.015 | 0.037 |
| | A*68:01 | 382 | -5 | -2 | | • | • | • | • | 9.0E-03 | 4.0E-02 | 0.140 | 0.035 | 0.244 | 8.0E-03 | 5.0E-03 | -39.877 | -69.388 | -10.367 | 2.0E-03 | 1.9E-03 | -0.149 | -0.240 | -0.057 | 4.0E-03 | 9.3E-03 | -1.567 | -2.622 | -0.512 | 4.5E-02 | 3.3E-02 | -0.037 | -0.073 | -0.001 |
| | A*68:03 | 370 | -2 | 0 | | • | • | • | • | 1.6E-01 | 2.5E-01 | 0.079 | -0.031 | 0.189 | 1.5E-01 | 2.9E-02 | -23.637 | -56.167 | 8.892 | 1.4E-01 | 2.5E-02 | -0.076 | -0.177 | 0.026 | 5.0E-03 | 9.3E-03 | -1.655 | -2.822 | -0.488 | 3.0E-02 | 3.8E-03 | -0.060 | -0.100 | -0.020 |
| | A*68:05 | 60 | -1 | 0 | | • | • | • | • | 6.2E-01 | 5.8E-01 | 0.063 | -0.187 | 0.314 | 6.1E-01 | 8.5E-02 | -18.457 | -88.616 | 51.703 | 5.3E-01 | 6.8E-02 | -0.070 | -0.288 | 0.148 | 1.5E-02 | 1.8E-02 | -3.129 | -5.659 | -0.599 | 1.5E-01 | 6.3E-02 | -0.063 | -0.149 | 0.023 |
| | B*13:02 | 65 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 1.8E-01 | 2.5E-01 | 0.164 | -0.074 | 0.403 | 3.1E-01 | 4.8E-02 | -34.629 | -101.203 | 31.946 | 1.3E-01 | 2.5E-02 | -0.159 | -0.366 | 0.049 | 1.4E-01 | 6.7E-02 | -1.811 | -4.194 | 0.572 | 2.5E-01 | 7.3E-02 | -0.048 | -0.129 | 0.034 |
| | B*15:30 | 20 | -1 | 0 | | • | • | • | • | 9.9E-01 | 7.8E-01 | 0.003 | -0.427 | 0.433 | 7.2E-02 | 1.9E-02 | -110.308 | -230.662 | 10.047 | 3.1E-01 | 4.4E-02 | -0.192 | -0.567 | 0.182 | 6.0E-03 | 1.0E-02 | -6.064 | -10.373 | -1.756 | 1.0E-01 | 4.8E-02 | -0.126 | -0.277 | 0.024 |
| | B*35:01 | 645 | -1 | 0 | | • | • | • | • | 5.3E-01 | 5.3E-01 | 0.031 | -0.064 | 0.126 | 5.7E-02 | 1.6E-02 | -23.885 | -48.491 | 11.720 | 3.2E-01 | 4.4E-02 | -0.043 | -0.126 | 0.041 | 3.0E-02 | 2.5E-02 | -0.974 | -1.855 | -0.093 | 1.4E-01 | 6.1E-02 | -0.023 | -0.053 | 0.007 |
| | B*35:02 | 51 | -2 | -1 | | • | • | • | • | 1.5E-02 | 5.5E-02 | 0.340 | 0.067 | 0.613 | 9.8E-02 | 2.3E-02 | -63.581 | -138.873 | 0.711 | 2.9E-02 | 1.3E-02 | -0.265 | -0.503 | -0.027 | 8.5E-02 | 4.8E-02 | -2.368 | -5.064 | 0.328 | 5.7E-02 | 3.9E-02 | -0.089 | -0.181 | 0.002 |
| | B*35:12 | 273 | -1 | -1 | | • | • | • | • | 1.8E-01 | 2.5E-01 | 0.092 | -0.042 | 0.225 | 1.4E-02 | 7.8E-03 | -43.890 | -79.004 | -8.777 | 7.9E-02 | 2.0E-02 | -0.105 | -0.223 | 0.012 | 6.2E-02 | 4.3E-02 | -1.193 | -2.447 | 0.062 | 5.6E-01 | 1.3E-01 | -0.013 | -0.056 | 0.030 |
| | B*35:14 | 38 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 4.5E-01 | 4.7E-01 | 0.121 | -0.191 | 0.434 | 7.3E-02 | 1.9E-02 | -80.439 | -168.232 | 7.353 | 1.1E-01 | 2.4E-02 | -0.222 | -0.498 | 0.053 | 3.7E-01 | 1.4E-01 | -1.460 | -4.650 | 1.729 | 2.3E-01 | 7.0E-02 | -0.067 | -0.176 | 0.042 |
| | B*39:01 | 127 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 7.7E-01 | 7.1E-01 | 0.026 | -0.152 | 0.205 | 1.1E-01 | 2.3E-02 | -41.867 | -92.441 | 8.708 | 2.7E-01 | 4.1E-02 | -0.088 | -0.246 | 0.069 | 1.2E-01 | 5.9E-02 | -1.462 | -3.281 | 0.356 | 2.9E-01 | 8.0E-02 | -0.033 | -0.095 | 0.029 |
| | B*39:05 | 360 | -2 | -1 | | • | • | • | • | 2.3E-01 | 3.0E-01 | 0.076 | -0.047 | 0.200 | 3.1E-02 | 1.1E-02 | -40.215 | -76.836 | -3.595 | 9.2E-02 | 2.2E-02 | -0.098 | -0.212 | 0.016 | 2.4E-02 | 2.4E-02 | -1.507 | -2.818 | -0.196 | 3.4E-01 | 9.2E-02 | -0.022 | -0.066 | 0.023 |
| | B*39:06 | 153 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 2.5E-01 | 3.2E-01 | 0.101 | -0.070 | 0.273 | 2.0E-01 | 3.4E-02 | -32.438 | -81.488 | 16.611 | 1.2E-01 | 2.4E-02 | -0.122 | -0.274 | 0.031 | 9.8E-01 | 3.2E-01 | -0.020 | -1.778 | 1.738 | 9.4E-01 | 1.9E-01 | -0.002 | -0.062 | 0.057 |
| | B*40:01 | 46 | 0 | 0 | | • | • | • | • | 7.2E-02 | 1.5E-01 | 0.257 | -0.023 | 0.538 | 1.8E-01 | 3.3E-02 | -53.532 | -132.182 | 25.117 | 6.3E-02 | 1.8E-02 | -0.232 | -0.477 | 0.013 | 6.2E-02 | 4.3E-02 | -2.680 | -5.497 | 0.136 | 9.1E-01 | 6.4E-02 | -0.065 | -0.161 | 0.031 |
| | B*81:01 | 16 | -1 | 0 | | • | • | • | • | 8.4E-01 | 7.5E-01 | -0.062 | -0.654 | 0.529 | 1.0E-01 | 2.3E-02 | -129.254 | -284.657 | 26.150 | 5.5E-01 | 6.8E-02 | -0.157 | -0.671 | 0.357 | 7.8E-01 | 2.7E-01 | 0.680 | -4.026 | 5.385 | 1.0E-03 | 1.7E-03 | -0.037 | -0.508 | -0.127 |
| | C*03:04 | 427 | -1 | 0 | | • | • | • | • | 1.4E-01 | 2.5E-01 | 0.078 | -0.025 | 0.181 | 2.8E-01 | 4.4E-02 | -15.866 | -44.387 | 12.656 | 2.1E-01 | 3.2E-02 | -0.058 | -0.149 | 0.032 | 4.2E-02 | 3.2E-02 | -1.054 | -2.072 | -0.037 | 1.7E-01 | 6.4E-02 | -0.024 | -0.059 | 0.010 |
| | C*04:01 | 1237 | -2 | -1 | | • | • | • | • | 3.0E-03 | 2.4E-02 | 0.116 | 0.039 | 0.193 | 8.7E-02 | 2.2E-02 | -18.893 | -40.558 | 2.772 | 9.0E-03 | 6.5E-02 | -0.089 | -0.157 | -0.022 | 6.8E-02 | 4.3E-02 | -0.669 | -1.388 | 0.050 | 4.3E-02 | 1.0E-01 | -0.010 | -0.035 | 0.015 |
| | C*07:02 | 1171 | -1 | -1 | | • | • | • | • | 2.5E-02 | 7.2E-02 | 0.084 | 0.011 | 0.158 | 5.2E-02 | 1.6E-02 | -22.708 | -45.631 | 0.215 | 5.0E-02 | 1.7E-02 | -0.072 | -0.144 | 0.000 | 7.6E-02 | 4.5E-02 | -0.737 | -1.553 | 0.078 | 2.1E-01 | 6.7E-02 | -0.018 | -0.046 | 0.010 |

Análisis MULTIVARIABLE de la cohorte MEX (n=1679)

| Resultado a la progresión por VIH | ALELO | N | Score HLA-VIH basado en 5 parámetros (CvP, CD4, Z-score, %CD4, CD4/CD8) | Score HLA-VIH basado en 2 parámetros (CvP, CD4) | Asociaciones HLA con el Modelo Linear Generalizado o GLM ajustados por variables confusoras (*, p<0.05 & q<0.2) | Carga Viral de VIH en plasma (CVp) | | | | Conteo de T CD4 | | | | Z-score | | | | Porcentaje de T CD4 | | | | Cociente CD4/CD8 | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|---------|-----|---|---|---|------------------------------------|---------|---------|---------|-----------------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------------------|---------|---------|--------|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--|--|--|
| | | | | | | CvP | | | | Valor q | | | | Coef. | | | | IC 95% | | | | Valor p | | | | Valor q | | | | Coef. | | | | IC 95% | | | |
| | | | | | | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | | | | |
| Asociaciones HLA-VIH de PROTECCIÓN | A*03:01 | 137 | 3 | 1 | • | • | • | • | 2.0E-01 | 3.8E-02 | -0.105 | -0.266 | 0.056 | 1.0E-03 | 1.0E-03 | 87.157 | 37.971 | 136.344 | 5.0E-03 | 4.2E-03 | 0.214 | 0.065 | 0.363 | 9.0E-03 | 3.4E-04 | 2.425 | 0.608 | 4.241 | 1.3E-01 | 6.6E-02 | 0.047 | -0.014 | 0.108 | | | | |
| | A*26:01 | 62 | 2 | 1 | • | • | • | • | 2.8E-01 | 4.9E-02 | -0.130 | -0.365 | 0.105 | 1.7E-02 | 9.6E-03 | 85.535 | 15.614 | 155.457 | 3.1E-02 | 1.9E-02 | 0.235 | 0.021 | 0.448 | 6.5E-01 | 6.1E-03 | 0.600 | -1.990 | 3.189 | 9.6E-01 | 3.3E-01 | -0.002 | -0.089 | 0.084 | | | | |
| | B*14:02 | 101 | 1 | 0 | • | • | • | • | 1.7E-01 | 3.7E-02 | -0.202 | -0.487 | 0.084 | 1.1E-01 | 3.8E-02 | 70.855 | -14.816 | 156.526 | 7.5E-02 | 3.6E-02 | 0.236 | -0.024 | 0.496 | 1.9E-01 | 2.1E-03 | 2.111 | -1.037 | 5.259 | 2.0E-02 | 2.1E-02 | 0.084 | 0.013 | 0.154 | | | | |
| | B*15:39 | 6 | 5 | 2 | • | • | • | • | 1.0E-05 | 1.1E-05 | -1.402 | -2.121 | -0.684 | 4.0E-03 | 2.8E-03 | 318.107 | 102.483 | 533.731 | 1.0E-05 | 1.4E-05 | 1.267 | 0.615 | 1.920 | 5.0E-03 | 2.8E-04 | 11.334 | 3.490 | 19.178 | 6.0E-03 | 1.0E-02 | 0.372 | 0.108 | 0.636 | | | | |
| | B*27:05 | 46 | 5 | 2 | • | • | • | • | 1.0E-05 | 1.1E-05 | -0.678 | -0.948 | -0.409 | 1.0E-05 | 2.1E-05 | 281.774 | 201.062 | 362.485 | 1.0E-05 | 1.4E-05 | 0.845 | 0.600 | 1.090 | 1.0E-05 | 2.3E-06 | 9.249 | 6.298 | 12.199 | 1.0E-05 | 2.9E-05 | 0.289 | 0.190 | 0.388 | | | | |
| | B*39:02 | 68 | 3 | 1 | • | • | • | • | 1.2E-02 | 5.0E-03 | -0.284 | -0.505 | -0.063 | 5.5E-01 | 1.4E-01 | 20.225 | -46.158 | 86.609 | 8.4E-02 | 3.6E-02 | 0.177 | -0.024 | 0.378 | 2.3E-02 | 5.8E-04 | 2.913 | 0.402 | 5.424 | 4.0E-03 | 8.6E-03 | 0.121 | 0.038 | 0.203 | | | | |
| | B*40:05 | 18 | 1 | 1 | • | • | • | • | 8.9E-01 | 1.2E-01 | -0.030 | -0.460 | 0.399 | 1.9E-02 | 9.8E-03 | 153.089 | 24.732 | 281.446 | 1.5E-01 | 4.9E-02 | 0.288 | -0.102 | 0.678 | 1.2E-01 | 1.8E-03 | 3.707 | -0.972 | 8.387 | 3.3E-01 | 1.4E-01 | 0.078 | -0.080 | 0.235 | | | | |
| | B*57:01 | 31 | 5 | 2 | • | • | • | • | 1.0E-05 | 1.1E-05 | -0.809 | -1.139 | -0.478 | 5.0E-03 | 3.1E-03 | 142.452 | 43.758 | 241.146 | 1.0E-05 | 1.4E-05 | 0.661 | 0.363 | 0.960 | 4.0E-03 | 2.8E-04 | 5.297 | 1.701 | 8.893 | 1.0E-05 | 2.9E-05 | 0.311 | 0.190 | 0.431 | | | | |
| | B*57:03 | 17 | 5 | 2 | • | • | • | • | 1.0E-03 | 6.7E-04 | -0.816 | -1.288 | -0.344 | 3.0E-03 | 2.7E-03 | 211.301 | 69.935 | 352.667 | 1.0E-05 | 1.4E-05 | 0.785 | 0.357 | 1.213 | 2.7E-02 | 6.1E-04 | 5.833 | 0.671 | 10.995 | 1.0E-05 | 2.9E-05 | 0.331 | 0.158 | 0.504 | | | | |
| | C*02:02 | 74 | 0 | 0 | • | • | • | • | 1.9E-01 | 3.8E-02 | -0.169 | -0.420 | 0.082 | 3.7E-01 | 1.0E-01 | 34.934 | -40.883 | 110.752 | 2.2E-01 | 6.5E-02 | 0.144 | -0.086 | 0.374 | 7.7E-01 | 7.0E-03 | 0.410 | -2.352 | 3.172 | 4.5E-01 | 1.9E-01 | 0.036 | -0.057 | 0.129 | | | | |
| C*03:03 | 121 | 4 | 1 | • | • | • | • | 2.0E-03 | 1.1E-03 | -0.267 | -0.436 | -0.097 | 1.1E-01 | 3.9E-02 | 41.231 | -9.880 | 92.342 | 1.3E-02 | 9.8E-03 | 0.197 | 0.042 | 0.352 | 2.1E-02 | 5.8E-04 | 2.220 | 0.332 | 4.108 | 1.4E-02 | 1.7E-02 | 0.080 | 0.016 | 0.144 | | | | | |
| C*08:01 | 143 | 1 | 0 | • | • | • | • | 5.3E-02 | 1.4E-02 | -0.156 | -0.314 | 0.002 | 3.6E-01 | 1.0E-01 | 21.940 | -25.480 | 69.360 | 1.2E-01 | 4.8E-02 | 0.113 | -0.030 | 0.257 | 1.7E-01 | 2.1E-03 | 1.224 | -0.510 | 2.958 | 4.2E-02 | 3.3E-02 | 0.061 | 0.002 | 0.119 | | | | | |
| C*08:02 | 132 | 2 | 1 | • | • | • | • | 3.1E-01 | 5.2E-02 | -0.131 | -0.384 | 0.122 | 1.0E-05 | 2.1E-05 | 108.668 | 59.084 | 158.252 | 1.4E-01 | 4.9E-02 | 0.172 | -0.057 | 0.402</ | | | | | | | | | | | | | | | |

| Resultado a la progresión por VIH | ALELO | N | Score HLA-VIH basado en 5 parámetros (CVp, CD4, Z-score, %CD4, CD4/CD8) | Score HLA-VIH basado en 2 parámetros (CVp, CD4) | Asociaciones HLA con el Modelo Linear Generalizado o GLM ajustados por variables confusoras (*, p<0.05 & q<0.2) | | | | Carga Viral de VIH en plasma (CVp) | | | | Conteo de T CD4 | | | | Z-score | | | | Porcentaje de T CD4 | | | | Cociente CD4/CD8 | | | | | | | | | |
|------------------------------------|---------|-----|---|---|---|-----|---------|------|------------------------------------|---------|---------|--------|-----------------|---------|---------|---------|----------|----------|---------|---------|---------------------|---------|---------|---------|------------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|
| | | | | | CVp | CD4 | Z-score | %CD4 | CD4/CD8 | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | Valor p | Valor q | Coef. | IC 95% | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asociaciones HLA-VIH de PROTECCIÓN | A*02:05 | 38 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 1.0E-01 | 4.9E-02 | -0.273 | -0.600 | 0.053 | 1.0E-05 | 3.2E-05 | 187.488 | 101.809 | 273.166 | 2.0E-03 | 6.4E-03 | 0.446 | 0.170 | 0.722 | 1.8E-02 | 2.2E-03 | 3.622 | 0.633 | 6.610 | 9.3E-02 | 1.4E-01 | 0.091 | -0.015 | 0.197 |
| | A*03:01 | 162 | 1 | 1 | • | • | • | • | • | 6.1E-01 | 1.5E-01 | -0.044 | -0.213 | 0.124 | 4.1E-02 | 2.4E-02 | 46.582 | 1.988 | 91.176 | 3.3E-01 | 9.5E-02 | 0.072 | -0.072 | 0.216 | 1.5E-01 | 8.5E-03 | 1.124 | -0.422 | 2.670 | 4.0E-01 | 3.2E-01 | 0.023 | -0.031 | 0.078 |
| | A*11:01 | 94 | 2 | 1 | • | • | • | • | • | 8.8E-02 | 4.8E-02 | -0.189 | -0.405 | 0.028 | 6.0E-03 | 6.4E-03 | 80.225 | 22.991 | 137.458 | 2.1E-02 | 1.2E-02 | 0.217 | 0.033 | 0.401 | 8.7E-02 | 6.6E-03 | 1.737 | -0.253 | 3.727 | 2.5E-01 | 2.4E-01 | 0.041 | -0.029 | 0.111 |
| | A*25:01 | 20 | 4 | 1 | • | • | • | • | • | 3.3E-01 | 9.8E-02 | -0.223 | -0.669 | 0.223 | 1.0E-03 | 2.1E-03 | 197.811 | 80.585 | 315.037 | 2.0E-02 | 1.2E-02 | 0.450 | 0.072 | 0.827 | 1.0E-03 | 5.0E-04 | 7.157 | 3.081 | 11.232 | 1.0E-05 | 5.1E-05 | 0.262 | 0.119 | 0.405 |
| | A*30:02 | 116 | 2 | 1 | • | • | • | • | • | 3.0E-03 | 1.8E-02 | -0.292 | -0.486 | -0.097 | 4.6E-01 | 2.3E-01 | 19.150 | -32.021 | 70.321 | 3.9E-02 | 1.7E-02 | 0.174 | 0.009 | 0.339 | 6.1E-01 | 2.5E-02 | 0.464 | -1.310 | 2.238 | 4.8E-01 | 3.6E-01 | 0.023 | -0.040 | 0.085 |
| | B*42:01 | 27 | 2 | 0 | • | • | • | • | • | 6.0E-01 | 1.5E-01 | -0.106 | -0.501 | 0.289 | 4.1E-01 | 1.1E-01 | 45.178 | -61.063 | 151.419 | 4.6E-01 | 1.3E-01 | 0.127 | -0.214 | 0.469 | 1.4E-02 | 2.0E-03 | 4.631 | 0.944 | 8.319 | 1.0E-03 | 3.8E-03 | 0.224 | 0.092 | 0.356 |
| | B*51:07 | 6 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 1.4E-01 | 6.0E-02 | -0.608 | -1.419 | 0.203 | 2.4E-02 | 1.7E-02 | 246.924 | 33.116 | 460.731 | 3.8E-02 | 1.7E-02 | 0.729 | 0.042 | 1.416 | 2.2E-02 | 2.4E-03 | 8.680 | 1.244 | 16.116 | 5.5E-02 | 9.3E-02 | 0.255 | -0.006 | 0.516 |
| | B*57:01 | 30 | 5 | 2 | • | • | • | • | • | 2.5E-02 | 3.0E-02 | -0.449 | -0.841 | -0.057 | 2.1E-02 | 1.7E-02 | 121.753 | 18.301 | 225.206 | 7.0E-03 | 9.0E-03 | 0.456 | 0.123 | 0.788 | 3.0E-03 | 6.0E-04 | 5.480 | 1.888 | 9.071 | 3.0E-02 | 6.5E-02 | 0.139 | 0.013 | 0.265 |
| | B*57:02 | 5 | 2 | 0 | • | • | • | • | • | 2.8E-01 | 8.7E-02 | -0.513 | -1.442 | 0.416 | 2.2E-01 | 7.0E-02 | 151.914 | -90.174 | 394.001 | 1.8E-01 | 5.9E-02 | 0.543 | -0.244 | 1.330 | 1.0E-03 | 5.0E-04 | 13.440 | 5.291 | 21.588 | 1.0E-05 | 5.1E-05 | 0.984 | 0.668 | 1.301 |
| | B*57:03 | 21 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 8.6E-02 | 4.8E-02 | -0.466 | -0.998 | 0.066 | 2.3E-01 | 7.0E-02 | 85.914 | -53.950 | 225.778 | 7.5E-02 | 3.0E-02 | 0.408 | -0.042 | 0.857 | 1.6E-01 | 8.5E-03 | 2.996 | -1.210 | 7.203 | 1.4E-01 | 1.7E-01 | 0.111 | -0.036 | 0.259 |
| C*12:03 | 96 | 3 | 1 | • | • | • | • | • | 2.1E-01 | 7.0E-02 | -0.136 | -0.351 | 0.078 | 4.0E-03 | 5.1E-03 | 83.953 | 27.429 | 140.478 | 1.6E-02 | 1.2E-02 | 0.224 | 0.042 | 0.407 | 3.7E-02 | 3.3E-03 | 2.091 | 0.123 | 4.060 | 1.5E-01 | 1.7E-01 | 0.051 | -0.018 | 0.120 | |
| C*17:01 | 60 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 5.1E-01 | 1.4E-01 | -0.089 | -0.355 | 0.178 | 1.4E-01 | 5.3E-02 | 53.361 | -17.477 | 124.199 | 2.2E-01 | 6.8E-02 | 0.141 | -0.086 | 0.369 | 1.6E-01 | 8.5E-03 | 1.763 | -0.699 | 4.224 | 9.6E-01 | 5.9E-01 | -0.003 | -0.105 | 0.099 | |
| C*18:01 | 29 | 5 | 2 | • | • | • | • | • | 4.1E-02 | 3.5E-02 | -0.450 | -0.881 | -0.019 | 4.0E-03 | 5.1E-03 | 146.358 | 48.008 | 244.709 | 1.8E-02 | 1.2E-02 | 0.441 | 0.076 | 0.806 | 7.0E-03 | 1.2E-03 | 4.725 | 1.311 | 8.139 | 1.0E-05 | 5.1E-05 | 0.233 | 0.112 | 0.354 | |
| Asociaciones HLA-VIH de RIESGO | A*02:01 | 538 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 4.0E-01 | 1.1E-01 | -0.048 | -0.160 | 0.064 | 5.9E-02 | 2.9E-02 | -28.389 | -57.858 | 1.081 | 5.2E-01 | 1.4E-01 | -0.032 | -0.128 | 0.065 | 5.8E-01 | 2.5E-02 | -0.289 | -1.302 | 0.724 | 3.2E-01 | 2.7E-01 | -0.018 | -0.054 | 0.018 |
| | A*02:06 | 130 | -1 | 0 | • | • | • | • | • | 1.6E-01 | 6.4E-02 | -0.135 | -0.325 | 0.054 | 1.5E-01 | 5.5E-02 | -36.884 | -87.592 | 13.824 | 9.0E-01 | 2.3E-01 | -0.010 | -0.173 | 0.152 | 7.7E-02 | 6.4E-03 | -1.583 | -3.336 | 0.170 | 4.6E-02 | 8.7E-02 | -0.063 | -0.124 | -0.001 |
| | A*24:02 | 466 | -2 | -1 | • | • | • | • | • | 8.9E-02 | 4.8E-02 | 0.100 | -0.015 | 0.215 | 3.1E-02 | 2.0E-02 | -33.484 | -63.970 | -2.998 | 7.0E-03 | 9.0E-03 | -0.136 | -0.234 | -0.038 | 2.9E-01 | 1.4E-02 | -0.570 | -1.624 | 0.483 | 5.5E-01 | 4.0E-01 | -0.011 | -0.049 | 0.026 |
| | A*36:01 | 16 | -3 | -1 | • | • | • | • | • | 3.4E-02 | 3.4E-02 | 0.558 | 0.041 | 1.075 | 2.9E-01 | 8.5E-02 | -72.959 | -208.659 | 62.741 | 3.5E-02 | 1.7E-02 | -0.469 | -0.905 | -0.034 | 3.0E-02 | 3.0E-03 | -5.065 | -9.632 | -0.498 | 1.2E-01 | 1.6E-01 | -0.132 | -0.297 | 0.033 |
| | A*68:01 | 148 | -5 | -2 | • | • | • | • | • | 1.5E-02 | 2.5E-02 | 0.217 | 0.043 | 0.391 | 1.0E-05 | 3.2E-05 | -83.968 | -130.048 | -37.889 | 1.0E-05 | 6.4E-05 | -0.270 | -0.418 | -0.122 | 2.0E-03 | 5.0E-04 | -2.513 | -4.104 | -0.922 | 2.5E-02 | 6.3E-02 | -0.064 | -0.121 | -0.008 |
| | A*68:03 | 195 | -3 | 0 | • | • | • | • | • | 1.1E-01 | 4.9E-02 | 0.131 | -0.028 | 0.291 | 1.3E-01 | 5.3E-02 | -33.621 | -77.569 | 10.327 | 1.4E-02 | 1.2E-02 | -0.169 | -0.304 | -0.034 | 2.0E-03 | 5.0E-04 | -2.261 | -3.716 | -0.805 | 6.0E-03 | 1.8E-02 | -0.071 | -0.123 | -0.020 |
| | B*35:02 | 20 | -2 | -1 | • | • | • | • | • | 1.7E-02 | 2.5E-02 | 0.577 | 0.101 | 1.052 | 7.3E-02 | 3.3E-02 | -113.149 | -236.853 | 10.555 | 7.0E-03 | 9.0E-03 | -0.547 | -0.944 | -0.150 | 1.4E-01 | 8.5E-03 | -3.220 | -7.524 | 1.085 | 2.3E-01 | 2.4E-01 | -0.093 | -0.244 | 0.058 |
| | B*35:12 | 114 | -1 | 0 | • | • | • | • | • | 8.0E-02 | 4.8E-02 | 0.195 | -0.023 | 0.413 | 2.2E-01 | 7.0E-02 | -33.825 | -87.771 | 20.122 | 1.1E-02 | 1.2E-02 | -0.226 | -0.399 | -0.053 | 8.5E-01 | 3.4E-02 | -0.186 | -2.062 | 1.690 | 7.7E-01 | 5.1E-01 | 0.010 | -0.056 | 0.076 |
| | B*39:05 | 114 | -1 | -1 | • | • | • | • | • | 1.9E-01 | 6.8E-02 | 0.138 | -0.068 | 0.345 | 2.0E-02 | 1.7E-02 | -67.453 | -124.337 | -10.570 | 8.4E-02 | 3.2E-02 | -0.161 | -0.344 | 0.022 | 1.5E-01 | 8.5E-03 | -1.464 | -3.439 | 0.512 | 9.7E-01 | 5.9E-01 | -0.001 | -0.071 | 0.068 |
| | C*03:03 | 75 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 7.3E-01 | 2.1E-01 | 0.043 | -0.196 | 0.282 | 5.6E-02 | 2.9E-02 | -61.404 | -124.267 | 1.459 | 2.2E-01 | 6.8E-02 | -0.126 | -0.328 | 0.077 | 1.2E-01 | 8.5E-03 | -1.737 | -3.923 | 0.450 | 2.4E-01 | 2.4E-01 | -0.046 | -0.123 | 0.030 |
| C*04:01 | 569 | -2 | -1 | • | • | • | • | • | 6.0E-03 | 1.8E-02 | 0.163 | 0.046 | 0.279 | 1.3E-01 | 5.3E-02 | -22.035 | -50.830 | 6.760 | 2.5E-02 | 1.3E-02 | -0.113 | -0.212 | -0.014 | 5.6E-01 | 2.5E-02 | -0.295 | -1.295 | 0.705 | 7.7E-01 | 5.1E-01 | -0.005 | -0.041 | 0.030 | |
| C*07:02 | 505 | 0 | 0 | • | • | • | • | • | 1.9E-01 | 6.8E-02 | 0.078 | -0.040 | 0.195 | 4.1E-01 | 1.1E-01 | -13.706 | -46.481 | 19.069 | 1.5E-01 | 5.5E-02 | -0.072 | -0.172 | 0.027 | 2.1E-01 | 1.0E-02 | -0.689 | -1.766 | 0.389 | 3.0E-01 | 2.7E-01 | -0.020 | -0.058 | 0.018 | |

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Novel HLA class I associations with HIV-1 control in a unique genetically admixed population

Humberto Valenzuela-Ponce¹, Selma Alva-Hernández¹, Daniela Garrido-Rodríguez¹, Maribel Soto-Nava¹, Thalía García-Téllez^{1,14}, Tania Escamilla-Gómez¹, Claudia García-Morales¹, Verónica Sonia Quiroz-Morales¹, Daniela Tapia-Trejo¹, Silvia del Arenal-Sánchez¹, Francisco-Javier Prado-Galbarro¹, Ramón Hernández-Juan¹, Edna Rodríguez-Aguirre¹, Akio Murakami-Ogasawara¹, Carlos Mejía-Villatoro², Ingrid Y. Escobar-Urías², Rodolfo Pinzón-Meza², Juan Miguel Pascale³, Yamitzel Zaldivar³, Guillermo Porras-Cortés⁴, Carlos Quant-Durán⁵, Ivette Lorenzana⁶, Rita I. Meza⁷, Elsa Y. Palou⁸, Marvin Manzanero⁹, Rolando A. Cedillos¹⁰, Carmen Aláez¹¹, Mark A. Brockman^{12,13}, P. Richard Harrigan¹³, Chanson J. Brumme¹³, Zabrina L. Brumme^{12,13}, Santiago Ávila-Ríos¹, Gustavo Reyes-Terán¹ & The Mesoamerican HIV Project Group*

Associations between HLA class I alleles and HIV progression in populations exhibiting Amerindian and Caucasian genetic admixture remain understudied. Using univariable and multivariable analyses we evaluated HLA associations with five HIV clinical parameters in 3,213 HIV clade B-infected, ART-naïve individuals from Mexico and Central America (MEX/CAM cohort). A Canadian cohort (HOMER, n = 1622) was used for comparison. As expected, HLA allele frequencies in MEX/CAM and HOMER differed markedly. In MEX/CAM, 13 HLA-A, 24 HLA-B, and 14 HLA-C alleles were significantly associated with at least one clinical parameter. These included previously described protective (e.g. B*27:05, B*57:01/02/03 and B*58:01) and risk (e.g. B*35:02) alleles, as well as novel ones (e.g. A*03:01, B*15:39 and B*39:02 identified as protective, and A*68:03/05, B*15:30, B*35:12/14, B*39:01/06, B*39:05~C*07:02, and B*40:01~C*03:04 identified as risk). Interestingly, both protective (e.g. B*39:02) and risk (e.g. B*39:01/05/06) subtypes were identified within the common and genetically diverse HLA-B*39 allele group, characteristic to Amerindian populations. While HLA-HIV associations identified in MEX and CAM separately were similar overall (Spearman's rho = 0.33, p = 0.03), region-specific associations were also noted. The identification of both canonical and novel HLA/HIV associations provides a first step towards improved understanding of HIV immune control among unique and understudied Mestizo populations.

Polymorphism within the human leukocyte antigen (HLA) class I (HLA-A, -B and -C) loci represents the strongest host genetic modifier of HIV disease progression^{1–4}. However, while HLA associations with HIV disease outcome have been extensively studied in Caucasian and African populations^{1,3,5–26}, Mestizo and other populations exhibiting complex genetic admixture remain understudied in this context. Populations in Mesoamerica (defined

¹National Institute of Respiratory Diseases, CIENI Center for Research in Infectious Diseases, Mexico City, Mexico. ²Hospital Roosevelt, Infectious Diseases Clinic, Guatemala City, Guatemala. ³Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panama City, Panama. ⁴Hospital Vivian Pellas, Managua, Nicaragua. ⁵Hospital Roberto Calderón, Managua, Nicaragua. ⁶Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras. ⁷Honduras HIV National Laboratory, Tegucigalpa, Honduras. ⁸Hospital Escuela Universitario, Tegucigalpa, Honduras. ⁹Ministry of Health, Belmopan, Belize. ¹⁰Hospital Nacional Rosales, San Salvador, El Salvador. ¹¹National Institute of Genomic Medicine, Translational Medicine Laboratory, Mexico City, Mexico. ¹²Simon Fraser University, Faculty of Health Sciences, Burnaby, Canada. ¹³British Columbia Centre for Excellence in HIV/AIDS, Vancouver, Canada. ¹⁴Present address: Institut Pasteur, Unité HIV, Inflammation and Persistence, Paris, France. *A comprehensive list of consortium members appears at the end of the paper. Correspondence and requests for materials should be addressed to S.Á.-R. (email: santiago.avila@cieni.org.mx) or G.R.-T. (email: gustavo.reyesteran@gmail.com)

here as Mexico and Central America) possess unique immunogenetics as a result of admixture between mainly Amerindian and Caucasian, as well as African HLA haplotypes^{27,28}, making these ideal for the identification of novel HLA correlates of HIV control. Here, we investigate HLA associations with five HIV clinical parameters among HIV-1 subtype B-infected, antiretroviral naive individuals in Mexico (MEX cohort, $n = 1679$) and 6 Central American countries: Guatemala, Belize, Honduras, El Salvador, Nicaragua and Panama (CAM cohort, $n = 1534$). We begin by characterizing the unique immunogenetics of this Mestizo population by comparing HLA allele frequencies (AF) and haplotype structures (linkage disequilibrium, LD) to those of a mainly Caucasian cohort from British Columbia, Canada (HOMER, $n = 1622$)^{29,30}. We then define protective and risk HLA class I alleles in the individual (MEX, CAM) and combined Mesoamerican (MEX/CAM) cohorts using a novel approach that scores HLA alleles based on their associations with five interlinked clinical parameters relevant to HIV disease progression, while adjusting for HLA linkage disequilibrium, co-expression of known protective HLA alleles and other potential confounding factors. Finally, we explore the extent to which HLA protective/risk alleles observed in the MEX and CAM cohorts are universal versus region-specific.

Methods

Ethics statement. Recruitment and study of the Mexican and Central American cohorts was evaluated by the Ethics Committee of the National Institute of Respiratory Diseases (INER) in Mexico City (protocol codes E02–05, E10–10, E06–09). All experiments were performed in accordance to the protocol guidelines and regulations of our Institution, and approved by the Ethics Committee of INER. All participants were adults (over 18 years) and gave written informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki before blood sample donation. Analysis of the BC HOMER reference cohort was approved and conducted according to the protocol guidelines and regulations of the Providence Health Care/University of British Columbia Research Ethics Board. All participants gave written informed consent and/or data were anonymized by REB-approved procedures.

Mexican and Central American cohorts. Three thousand two hundred and thirteen HIV-1 clade B-infected, Antiretroviral Treatment (ART)-naïve individuals from Mexico and from 6 out of 7 Central American countries were enrolled by convenience sampling from 2000 to 2016 as part of an international multicenter cross-sectional study to evaluate HIV molecular epidemiology, drug resistance prevalence and HLA adaptation in Mesoamerica. Individuals were enrolled and donated a single blood sample at the time of HIV diagnosis or at follow-up visits prior to starting ART according to national guidelines. Every HIV-infected person naive to ART attending each participating clinic was offered the opportunity to participate during active recruitment periods. No additional exclusion criteria were applied. In Mexico (MEX cohort), 1679 participants were enrolled in a national collaborative network of clinics from 23 out of 32 Mexican states comprising Baja California, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Colima, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Mexico City, Michoacan, Morelos, Nuevo Leon, Oaxaca, Puebla, Queretaro, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, State of Mexico, Tabasco, Tlaxcala, Veracruz and Yucatan. From Central America (CAM cohort), 1534 subjects were recruited, including 418 from Guatemala, 102 from Belize, 42 from El Salvador, 402 from Honduras, 254 from Nicaragua and 316 from Panama, using convenience sampling. Participating institutions in Central America included: Guatemala: Roosevelt Hospital, Guatemala City (a national referral center)³¹; Belize: Ministry of Health, Belmopan; El Salvador: Rosales National Hospital, San Salvador; Honduras: University School Hospital, Tegucigalpa; National Cardio-Pulmonary Institute, Tegucigalpa; Mario Catarino Rivas Hospital, San Pedro Sula; Atlántida Hospital, La Ceiba; South Hospital, Choluteca (five of the largest HIV clinics across the country)³²; Nicaragua: Roberto Calderón Hospital, Managua (the largest reference center in the country)³³; Panama: Gorgas Memorial Institute for Health Studies, Panama City (a national reference center)³⁴. Demographic data were obtained via questionnaire at the time of sample donation. Blood samples, completed consent forms and demographic questionnaires were shipped to the Centre for Research in Infectious Diseases (CIENI) of the National Institute of Respiratory Diseases (INER) in Mexico City, a WHO-accredited laboratory for HIV genotyping, within 72 hours of collection. HIV clinical information (baseline drug resistance test, plasma viral load [pVL] and CD4 counts) were sent back to the different Mexican states or countries in Central America for clinical follow-up of the participants.

HOMER cohort. The HAART Observational Medical Evaluation and Research (HOMER) cohort³⁵ from British Columbia, Canada, a historic retrospective observational cohort comprising HIV-infected antiretroviral naive individuals initiating their first combination antiretroviral treatment regimen since 1996, was used as a reference for HLA allele frequency and HLA-pVL associations comparison. Clinical measurements from the earliest available time point before initiating ART were used. pVL in the HOMER cohort were performed with either Roche COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-1 MONITOR UltraSensitive Test, version 1.5 (1996–2008) or Roche COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan v1 HIV-1 Test (2008–2010). Median pVL and CD4 counts in the HOMER cohort were 4.90 (IQR 4.33–5.26) \log_{10} copies/mL and 340 (IQR 170–500) cells/ μ L respectively. The cohort was predominantly male (86.2%), and the median age at recruitment was 37.4 (IQR 32–44) years. HOMER is primarily composed of Caucasian individuals (>60%); a minority of individuals self-identified as Hispanic (~2%) or Indigenous/Amerindian (~13%)³⁵. The present analysis was restricted to subtype B-infected persons ($n = 1622$; 90% of total cohort³⁵). As described elsewhere^{29,30}, the majority of HLA class I types were defined at subtype level resolution, with the remaining intermediate-resolution data imputed to subtype-level resolution using a machine learning algorithm trained on HLA-A, B and C subtypes from >13,000 individuals with known ethnicity³⁶.

HIV subtyping. HIV subtypes were determined using REGA HIV Subtyping Tool (3.0) (<http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/>) and confirmed with the Recombination Identification Program³⁷ (RIP, www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RIP/RIP.html) using available plasma HIV *pol*

(protease and reverse transcriptase) sequences, obtained as described elsewhere³¹. All non-subtype B-infected individuals were removed prior to analysis.

HIV clinical parameters. HIV pVL was determined by automated real-time polymerase chain reaction (PCR) using the m2000 system (Abbott, Abbott Park, IL, USA) with a detection limit of 40 HIV RNA copies/mL. CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ cell counts were obtained by flow cytometry using the TruCount Kit in FACSCanto II instrument (BD Biosciences, San Jose, CA).

HLA class I typing. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated by density gradient centrifugation (Ficoll-Paque Pharmacia, Uppsala, SE) from blood samples from MEX cohort, while buffy coats were isolated from CAM cohort blood samples and cryopreserved until DNA extraction. Total genomic DNA was extracted from PBMCs (~6 million cells) or buffy coats (200 µL) using the QIAmp Blood Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA), according to the manufacturer's specifications. *HLA-A*, *-B* and *-C* types were resolved at subtype-level (e.g. second field/4-digit) resolution using a previously described protocol with some modifications³⁸. Briefly, a nested polymerase chain reaction (PCR) using universal, locus-specific primers was used to amplify a ~1000 base pair region spanning exons 2 and 3 (which encode the α1 and α2 domains of the HLA peptide binding groove) of *HLA-A*, *-B* and *-C* loci, using the Expand High Fidelity PCR system (Roche Applied Science, Laval, PQ) (3.5 U/µL). For *HLA-A* PCR reactions, 5% dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, St Louis, MO) was added to decrease unspecific amplification and primer dimerization. *HLA-B* PCR products were cleaned up with ExoSAP-IT (Affimetrix, Cleveland, OH) and *HLA-A* and *-C* PCR products were diluted 10-fold and directly sequenced using a set of six sequencing primers per locus as previously described³⁸ on a 3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA), using the BigDye Terminator v3.1 chemistry (Life Technologies, Carlsbad, CA). Sequences were trimmed with Sequencing Analysis software v5.4 (Applied Biosystems) and HLA subtypes were assigned using UType v7.1 RUO (Applied Biosystems) using the up-to-date IPD-IMGT/HLA Database (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>). Using this procedure, ambiguous HLA assignments can arise due to the presence of polymorphisms outside of the analyzed region (exons 2 and 3). For these cases, ambiguous HLA pairs were managed as G groups, including: *A*74:01:01G* (*A*74:01* in the text, encompassing *A*74:01* and *A*74:02*; difference in exon 1), *C*18:01:01G* (*C*18:01* in the text, encompassing *C*18:01* and *C*18:02*; difference in exon 5), *C*17:01:01G* (*C*17:01* in the text, encompassing *C*17:01*, *C*17:02* and *C*17:03*; difference in exons 1 and 5). Ambiguous HLA assignments may also arise due to the lack of phase resolution as a result of bulk (direct) sequencing of PCR amplicons. Considering only HLA ambiguities that affect the first (allele group-level) and second (subtype-level) HLA fields and that included either two common alleles or one common and one well-documented subtype present in the Common and Well-documented catalogue³⁹, a total of 142 *HLA-A*, 161 *HLA-B*, and 104 *HLA-C* pairs were ambiguous due to lack of phase resolution (Supplementary Table S1). These ambiguities were resolved by assigning the most probable combination using HLA allele frequency (AF) and linkage disequilibrium (LD) data from the same cohorts. All HLA haplotypes were confirmed using the same published probabilistic method used for the HOMER cohort³⁶ (HLA Completion web tool, <http://boson.research.microsoft.com/hla/>). Only 72 (of 6392, 1.12%) missing *HLA-A* or *HLA-C* types were imputed due to PCR/sequencing failure at these loci or lack of sample availability, using the same tool. HLA pairs with an unresolved *HLA-B* allele (23/3213 pairs, 0.71%) were considered missing data. As previously described⁴⁰, our HLA typing methodology was validated to be 99.9% accurate in Mesoamerican Mestizo populations by comparing assigned HLA types to those obtained via amplification of exons 1 to 8 (for *HLA-A* and *HLA-C*) and exons 1 to 7 (for *HLA-B*) followed by next generation sequencing (TruSight HLA v2 Sequencing Panel, Illumina, San Diego, CA) in a large independent Mexican cohort (n = 323). Raw HLA typing data are available upon direct request to the authors.

HLA linkage disequilibrium analysis. LD between pairs of HLA alleles was assessed using the Los Alamos HIV Molecular Immunology Database HLA Analysis Tools (<https://www.hiv.lanl.gov/>), with multiple comparisons addressed via Bonferroni correction. For the MEX cohort LD analysis, 12,970 two-way comparisons were performed (p-values < 3.9E-06 were considered significant), and for the CAM cohort 14,234 two-way comparisons were performed (p-values < 3.5E-06 were considered significant). The high-dimensional visualization tool Disentangler⁴¹ was used to graph HLA haplotype structures.

HLA allele frequency comparison. HLA AF were calculated by direct gene count (denominator 2n). All HLA subtypes with AF > 0.001 in at least one cohort were compared using two-tailed Fisher's exact test; here, multiple comparisons were addressed using q-values, the p-value analogue of the false discovery rate⁴². Results with p < 0.05 and q < 0.2 were considered statistically significant.

Univariable and multivariable analyses of HLA-HIV clinical parameter associations. HLA allele associations with five clinical parameters previously described to be predictive of HIV disease progression were investigated. These included pVL⁴³ and absolute CD4 count⁴⁴, used in routine clinical monitoring of HIV infection, as well as CD4 percentage⁴⁵, CD4/CD8 ratio⁴⁵, and a proxy variable called Z-score that combines information from both CD4 count and pVL⁴⁶, calculated as

$$Zscore = \frac{\left[\frac{CD4 - \text{mean } CD4}{sd_{CD4}} \right] - \left[\frac{pVL - \text{mean } pVL}{sd_{pVL}} \right]}{2}$$

(sd = standard deviation), where lower pVL and higher CD4 counts yield higher and more positive Z-scores. MEX and CAM cohorts were analyzed separately and in a combined fashion, where all HLA alleles observed in

a minimum of 5 individuals (representing $AF \geq 0.0015$ and ≥ 0.0008 for the individual and combined cohorts, respectively) were evaluated. This encompassed 147 HLA alleles (42 *HLA-A*, 75 *HLA-B* and 30 *HLA-C*) in the pooled MEX/CAM analysis; 119 HLA alleles (33 *HLA-A*, 59 *HLA-B* and 27 *HLA-C*) in the MEX analysis alone and 123 (35 *HLA-A*, 60 *HLA-B* and 28 *HLA-C*) in the CAM cohort alone. The Mann-Whitney U test was used to evaluate associations between each HLA allele (treated as a binary variable; e.g. comparing *B*57:01*⁺ vs. *B*57:01*⁻ individuals) and the parameter of interest. Univariable analysis was also performed using Generalized Linear Models (GLM) to estimate HLA-HIV association effect sizes. Multiple comparisons were addressed using q-values⁴⁷, where associations with p-values < 0.05 and q-values < 0.2 were considered significant. We additionally instituted a scoring system where, for each HLA allele investigated, we summed its total number of significant protective and risk associations (each assigned +1 and -1, respectively), such that final scores could range from +5 to -5. Alleles with no significant associations were assigned a score of 0. Two multivariable linear regression models were also constructed to account for potential confounders of HLA-HIV associations, after which the overall 5-parameter scores were adjusted accordingly. First, independent models were constructed relating each HLA allele to each HIV clinical parameter, while adjusting for gender, age, geographical origin (country/region coded as n-1 binary variables) and the effect of the most significant HLA associations for that parameter (defined as the HLA alleles with $p < 0.001$ in the corresponding Mann-Whitney univariable analysis). Specific HLA alleles included in each model are listed in Supplementary Table S9. Second, we constructed models adjusting for all HLA subtypes in significant ($p < 0.05$ and $q < 0.2$) linkage disequilibrium with every HLA allele associated with an HIV clinical parameter in that cohort. Statistical analyses were undertaken using Stata/MP v14.1 (StataCorp, College Station, TX) and R v3.3.3⁴⁸.

Results

MEX and CAM cohort characteristics. Overall, the clinical and demographic characteristics of the Mexico (MEX; $n = 1679$), Central America (CAM; $n = 1534$) and combined ($n = 3213$) cohorts (Table 1) are consistent with the frequent diagnosis of HIV in advanced infection in Latin America and an concentrated epidemic mainly in men who have sex with men⁴⁹. Median pVL in MEX was significantly higher ($p < 0.00001$) than that in CAM (4.72 versus 4.57 \log_{10} HIV RNA copies/mL), though CD4 T cell counts and CD4/CD8 ratios did not differ significantly between the cohorts (median 315 cells/ μ L and ~ 0.28 , respectively). CD4+ T cell percentages and Z-scores⁴⁶ also differed marginally between cohorts ($p < 0.01$).

Unique immunogenetic profiles of HIV-infected individuals in Mesoamerica. HLA class I allele frequencies differed markedly in the combined MEX/CAM versus HOMER cohorts (Fig. 1). The most frequent *HLA-A*, *-B* and *-C* alleles observed in MEX/CAM were *A*02:01* ($AF = 0.20$), *A*24:02* (0.15), *A*02:06* (0.06), *B*35:01* (0.10), *B*40:02* (0.06), *B*39:05* (0.05), *C*04:01* (0.19), *C*07:02* (0.18) and *C*07:01* (0.07). Of the 153 alleles investigated, 52.9% (81/153) exhibited significantly ($p < 0.05$, $q < 0.2$) different frequencies between MEX/CAM and HOMER; these included 25/45 *HLA-A*, 39/77 *HLA-B* and 17/31 *HLA-C* alleles. As expected, Amerindian HLA alleles^{27,28} were enriched and Caucasian HLA alleles⁵⁰ were underrepresented in MEX/CAM compared to HOMER. Notably, MEX/CAM featured a diversity of “typical” Amerindian HLA subtypes belonging to the *A*02*, *A*68*, *B*15*, *B*35*, *B*39*, and *B*40* allele groups.

Strong HLA LD allowed us to identify common 2 and 3-loci haplotypes in our populations (Fig. 2 and Supplementary Tables S2–S7). A total of 104 distinct 2-loci HLA haplotypes were identified in MEX (Bonferroni, $p < 3.9E-06$; Supplementary Table S2), of which two had population frequency (PF) ≥ 0.10 (*B*39:05*~*C*07:02* [PF = 0.13⁵¹] and *B*35:01*~*C*04:01* [PF = 0.12]); a further 35 had PF between 0.02–0.10 (Fig. 2A). Also, 36 distinct 3-loci HLA haplotypes were identified in MEX (Bonferroni, $p < 8.0E-06$; Supplementary Table S3). In CAM, 95 distinct 2-loci HLA haplotypes were identified (Bonferroni $p < 3.5E-06$; Supplementary Table S4), of which one had PF ≥ 0.10 (*B*35:01*~*C*04:01* [PF = 0.13]) and 33 had PF between 0.02–0.10 (Fig. 2B). A further 30 distinct 3-loci HLA haplotypes were identified in CAM (Bonferroni, $p < 8.2E-06$; Supplementary Table S5). Analyzing MEX/CAM as a whole, 154 distinct 2-loci and 87 distinct 3-loci were identified (Bonferroni $p < 2.3E-06$ and $p < 4.2E-06$, respectively; Supplementary Tables S6–S7).

Overall, these findings highlight the immunogenetic uniqueness of Mesoamerican Mestizo populations and support them as ideal for identifying novel HLA correlates of HIV control.

HLA associations with HIV pVL in MEX/CAM include both canonical and novel associations.

Given the significantly different HLA frequency distributions between MEX/CAM and HOMER, we hypothesized that HLA associations with HIV parameters would also differ markedly. We explored this by identifying HLA allele associations with the well-characterized marker of HIV disease progression pVL⁴³ in both cohorts, in a univariable analysis. At the predefined statistical threshold of $q < 0.2$, we identified thirteen HLA alleles (5 *HLA-A*, 5 *HLA-B*, and 3 *HLA-C*) significantly associated with lower pVL, and four alleles (2 *HLA-A*, and 2 *HLA-B*) associated with higher pVL in HOMER, compared to sixteen HLA alleles (1 *HLA-A*, 7 *HLA-B*, and 8 *HLA-C*) associated with lower pVL, and twelve alleles (4 in *HLA-A*, 5 in *HLA-B*, and 3 in *HLA-C*) associated with higher pVL in MEX/CAM (Fig. 3). A number of these associations were consistent across cohorts: in all cases these were HLA alleles previously reported to be associated with HIV progression, including the canonical protective alleles *B*57:01* and *B*27:05*^{1,9,11,12,16,20,21,23–25} which were associated with significantly lower pVL in both cohorts. Additionally, as previously described, *A*30:02*^{14,24,25} (LD with *B*18:01* and *C*05:01* in both cohorts), *C*02:02*^{1,23} (LD with *B*27:05* in both cohorts) and *C*14:02*^{5,23} (LD with *B*51:01* in both cohorts) were associated with lower pVL in both cohorts; while *A*68:01*^{17,20} (LD with *C*03:04* in MEX/CAM and with *C*07:04* in HOMER) was associated with higher pVL in both cohorts. Numerous previously-reported HLA associations were also confirmed in one of the two cohorts. Specifically, *A*25:01*^{3,11}, *A*32:01*^{1,11}, *B*14:01*^{3,16}, and *B*13:02*^{1,17,24,25} were associated with lower pVL exclusively in HOMER; while *B*07:02*^{1,3,17,24,25}, *B*55:01*^{52,53}, and *A*23:01*^{11,18}

| | Pooled MEX/CAM cohort | MEX cohort | CAM cohort | p-value* |
|--|-----------------------|--------------------|--------------------|----------|
| N | 3213 | 1679 | 1534 | — |
| Age (years, median[IQR]) | 31 [25–40] | 30.5 [24–38] | 33 [26–42] | <0.00001 |
| Female (N[%]) | 912 [28.4%] | 364 [21.7%] | 548 [35.7%] | 0.0001 |
| Log ₁₀ HIV Plasma Viral Load (RNA copies/mL, median[IQR]) | 4.65 [4.01–5.22] | 4.72 [4.14–5.26] | 4.57 [3.83–5.14] | <0.00001 |
| CD4+ T cell count (cells/μL, median[IQR]) | 315 [124–516] | 315 [124–528] | 315 [125–504] | NS |
| HIV Z-score (median[IQR]) β | −0.08 [−0.66–0.52] | −0.12 [−0.69–0.46] | −0.05 [−0.61–0.56] | 0.0022 |
| Percentage of CD4+ T cell counts (%[IQR]) | 16.0 [9.0–24.0] | 16.5 [9.0–24.8] | 16.0 [9.0–23.0] | 0.0056 |
| CD4/CD8 ratio (median[IQR]) | 0.28 [0.14–0.49] | 0.28 [0.14–0.49] | 0.29 [0.14–0.49] | NS |
| Marital status (N[%]) | | | | 0.0001 |
| Single | 1434 [63.5] | 538 [72.2] | 896 [59.2] | |
| Married | 325 [14.3] | 91 [12.2] | 234 [15.4] | |
| Domestic partnership | 499 [22.1] | 116 [15.5] | 383 [25.3] | |
| Unknown | 955 | 934 | 21 | |
| Education (N[%]) | | | | 0.0001 |
| Illiterate | 136 [6.0] | 16 [2.1] | 120 [7.9] | |
| Elementary | 704 [31.2] | 127 [17.3] | 577 [38.0] | |
| High school | 863 [38.3] | 345 [47.0] | 518 [34.1] | |
| Degree or technical qualification | 523 [23.2] | 233 [31.7] | 290 [19.1] | |
| Postgraduate | 26 [1.1] | 13 [1.7] | 13 [0.8] | |
| Unknown | 1097 | 945 | 16 | |
| Employment (N[%]) | | | | 0.0023 |
| Unemployed | 969 [44.0] | 282 [40.0] | 687 [45.9] | |
| Employed | 1077 [48.9] | 358 [50.85] | 719 [48.0] | |
| Student | 154 [7.0] | 64 [9.0] | 90 [6.0] | |
| Unknown | 1013 | 975 | 38 | |
| HIV risk factor (N[%]) | | | | 0.0001 |
| Heterosexual | 1394 [64.2] | 289 [42.8] | 1105 [73.9] | |
| Men who have sex with men | 657 [30.2] | 322 [47.7] | 335 [22.4] | |
| Bisexual | 75 [3.4] | 37 [5.4] | 38 [2.5] | |
| People who inject drugs | 35 [1.6] | 19 [2.8] | 16 [1.0] | |
| Blood transfusion | 5 [0.2] | 5 [0.7] | 0 [0] | |
| Mother-to-child transmission | 3 [0.1] | 2 [0.3] | 1 [0.07] | |
| Unknown | 1044 | 1005 | 39 | |

Table 1. Clinical and demographic characteristics of the Mesoamerican cohorts. β Metric relating pVL and CD4 count. Higher Z-score values mean lower pVL and higher CD4 count and vice versa. *Mann-Whitney U test or Chi-squared test were used to compare values between the Mexico and Central America cohorts.

were associated with higher pVL in HOMER. Moreover, *B*14:02*^{3,16}, *B*57:03*^{5,8,15–17,19,23}, *B*58:01*^{5,12,14,17,20,22}, *B*81:01*^{5,12,17,20}, *C*03:02*¹⁷ (LD with *B*58:01*), *C*03:05*²⁴ (LD *B*40:02*, *A*24:02*), *C*08:02*²⁰ (LD *B*14:01/02*), *C*12:02*^{20,22} (LD *B*52:01*³), *C*14:03*^{22,23} (no significant LD found), and *C*18:01*^{14,17,20,25} (LD *B*57:01/02* and *B*81:01*) were associated with lower pVL only in MEX/CAM; while *B*35:01*^{5,6,11,13,22,23}, *B*35:02*^{1,6,9,11,13,23} (which exhibited the highest median pVL of all *HLA-B* alleles), *A*24:02*^{1,11,18} (LD *B*39:06*, *B*40:02*, *C*03:05*), *C*04:01*^{6,16,22,23} (LD *B*35:01/02/08/12/14/16/17/20*, *B*07:02*, *B*53:01*, among others), and *C*07:02*^{1,14} (LD *B*39:01/05/06/08/11*, *B*07:02*, among others) were associated with higher pVL in MEX/CAM.

Numerous novel associations were also identified in MEX/CAM. These included the relatively rare Amerindian allele *B*15:39* ($n = 8$, $p = 0.0052$, $q = 0.04$), which was associated with lower pVL, as well as the common Amerindian alleles *B*35:12* ($n = 273$, $p = 0.0002$, $q = 0.003$), *B*39:05* ($n = 360$, $p = 0.0026$, $q = 0.0034$), *B*39:06* ($n = 153$, $p = 0.011$, $q = 0.07$), *A*68:03* ($n = 370$, $p = 0.0079$, $q = 0.061$); LD *B*39:05*, *B*35:43*, *C*07:02*, and *C*03:04* ($n = 427$, $p = 0.0339$, $q = 0.15$); LD *B*40:02/01/05/08/11*, *A*68:01*, which were associated with significantly higher pVL (Fig. 3). Notably, these alleles, though present at relatively high frequency in MEX/CAM, are rare or absent in Caucasian and African populations (e.g. Fig. 1 and ref.⁵⁰).

Additional novel associations between Amerindian HLA alleles and HIV risk/protection. We next extended our analyses of our Mesoamerican cohorts to identify HLA alleles associated with an expanded panel of five HIV clinical parameters (pVL, CD4 count, Z-score, %CD4, and CD4/CD8 ratio). HLA alleles associated with each of the 5 clinical parameters, stratified by cohort, are listed in Table 2. Consistent with previous reports¹², *HLA-B* alleles featured prominently among these associations, with 43 *HLA-B* alleles (24 in MEX/CAM, 11 in MEX, and 8 in CAM) associated with at least one clinical parameter ($p < 0.05$, $q < 0.2$) compared to

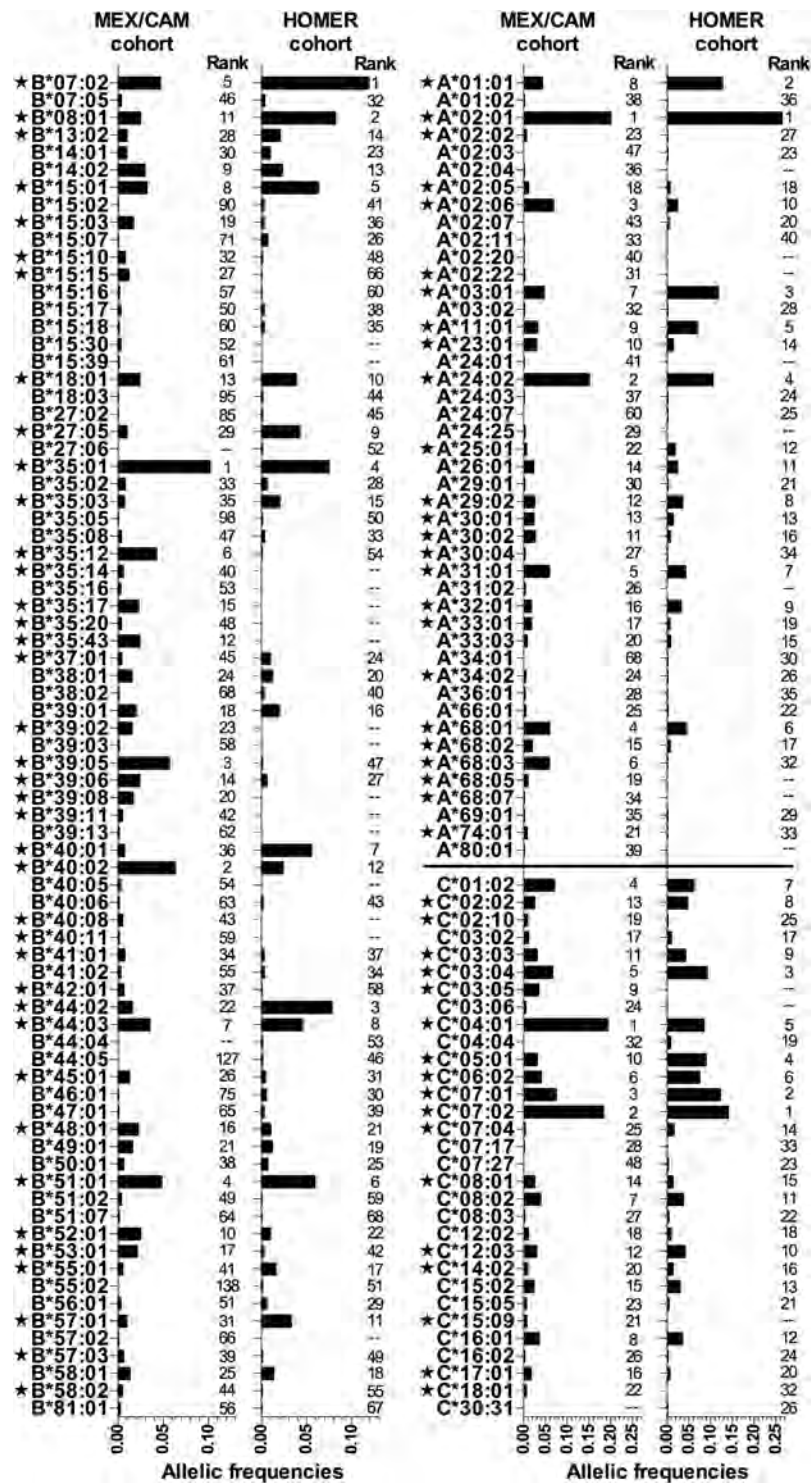


Figure 1. Comparison of HLA class I allele frequencies between the Mestizo MEX/CAM cohort ($n = 3213$) and the mainly Caucasian HOMER cohort ($n = 1622$). Allele frequencies ($2n$) were calculated using the HLA Analysis tool from Los Alamos HIV Database (<https://www.hiv.lanl.gov>); all HLA AF > 0.001 in at least one cohort are shown here. AF were compared using Fisher's exact test, with multiple tests addressed using q -values⁴². Significant differences ($p < 0.05$, $q < 0.2$) are denoted by a star.

29 HLA-A alleles (13 in MEX/CAM, 5 in MEX, and 11 in CAM) and 29 HLA-C alleles (14 in MEX/CAM, 9 in MEX, and 6 in CAM).

As a novel way to quantify HLA associations with HIV clinical parameters, we instituted a scoring system that summed each HLA allele's total number of significant protective and risk associations (each assigned +1 and -1, respectively), such that final scores ranged from +5 to -5 (Fig. 4). Alleles with no significant associations

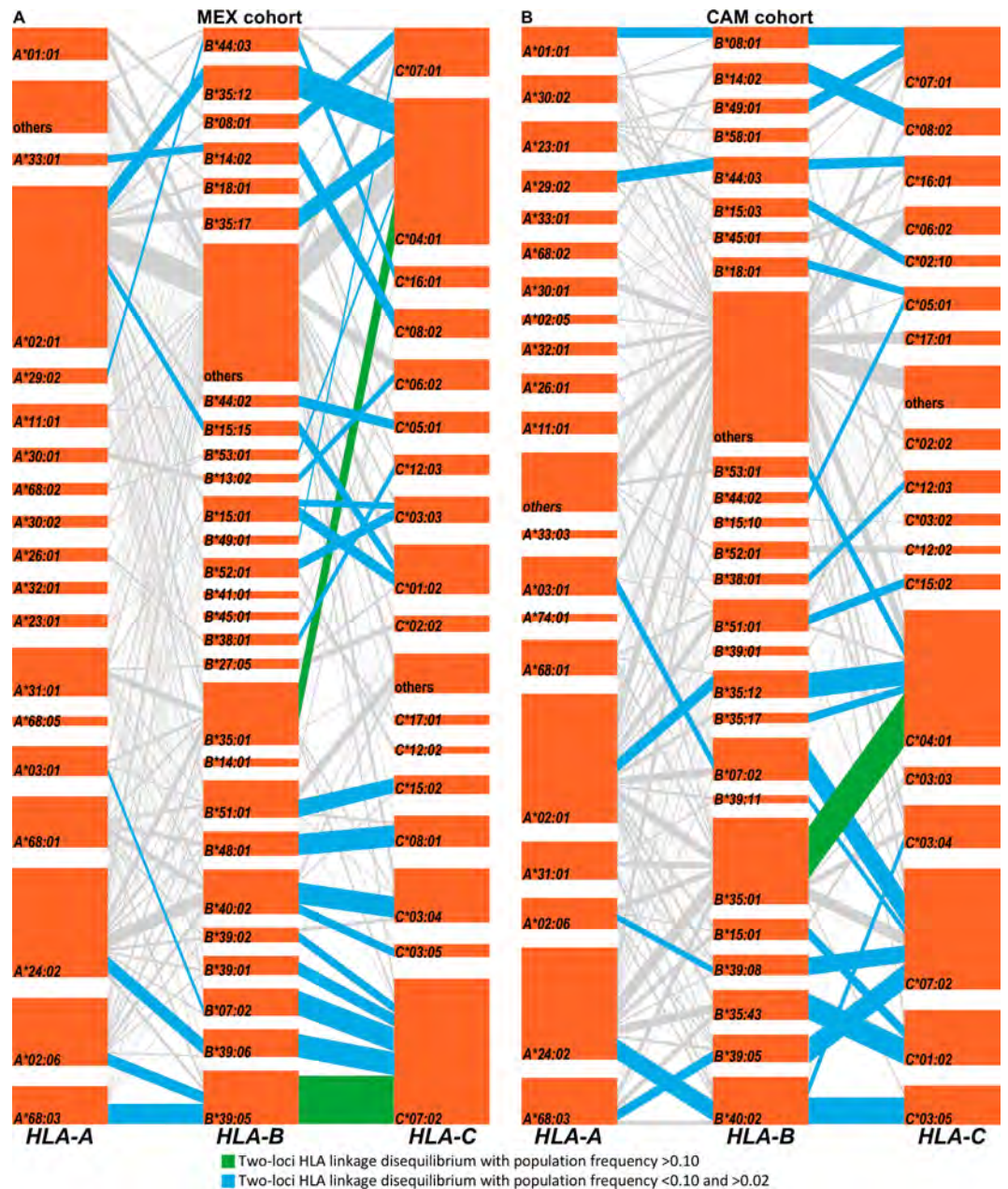


Figure 2. HLA class I haplotype structures and linkage disequilibrium in the MEX (panel A) and CAM (panel B) cohorts. HLA loci are stacked vertically, with each orange tile representing a specific HLA subtype, and with segments connecting linked alleles on adjacent loci. The height of each tile and the thickness of each segment correspond to HLA allele and haplotype frequencies, respectively. The most frequent HLA allele pairs (two-loci) found to be in linkage disequilibrium are highlighted in green (PF > 0.10) and blue (PF < 0.10 and > 0.02); less frequent pairs (PF < 0.02) are shown in grey. Frequently linked (PF < 0.10 and > 0.02) HLA-A and HLA-C allele pairs were also found in our cohorts including A*33:01/C*08:02, A*29:02/C*16:01, A*68:01/C*03:04, and A*68:03/C*07:02 in the MEX cohort, and A*02:06/C*07:02, A*24:02/C*01:02, A*24:02/C*03:05, and A*68:03/C*07:02 in the CAM cohort (not shown in the figure; see Supplementary Tables S4 and S6).

were assigned a score of 0. As expected, a given HLA allele's overall association score correlated significantly in a dose-dependent manner with its associated median value for all 5 clinical parameters in both MEX/CAM and individual cohorts (Supplementary Figure S1); also, HLA subtypes associated with pVL (Fig. 3) generally tended to be associated with other clinical parameters (e.g. 22 of 28, 78.5% in MEX/CAM), though some exceptions were noted (Fig. 4).

In the MEX/CAM cohort, 7 HLA alleles (B*57:03, C*18:01 [LD B*57:02/03, B*81:01], B*27:05, B*57:01, B*14:02, C*08:02 [LD B*14:01/02], and C*02:02 [LD B*27:05]) achieved the highest protective score of +5 (Fig. 4A). The next highest-scoring group (+4) included B*42:01, A*02:05 (LD B*50:01, B*58:01), A*03:01 (new

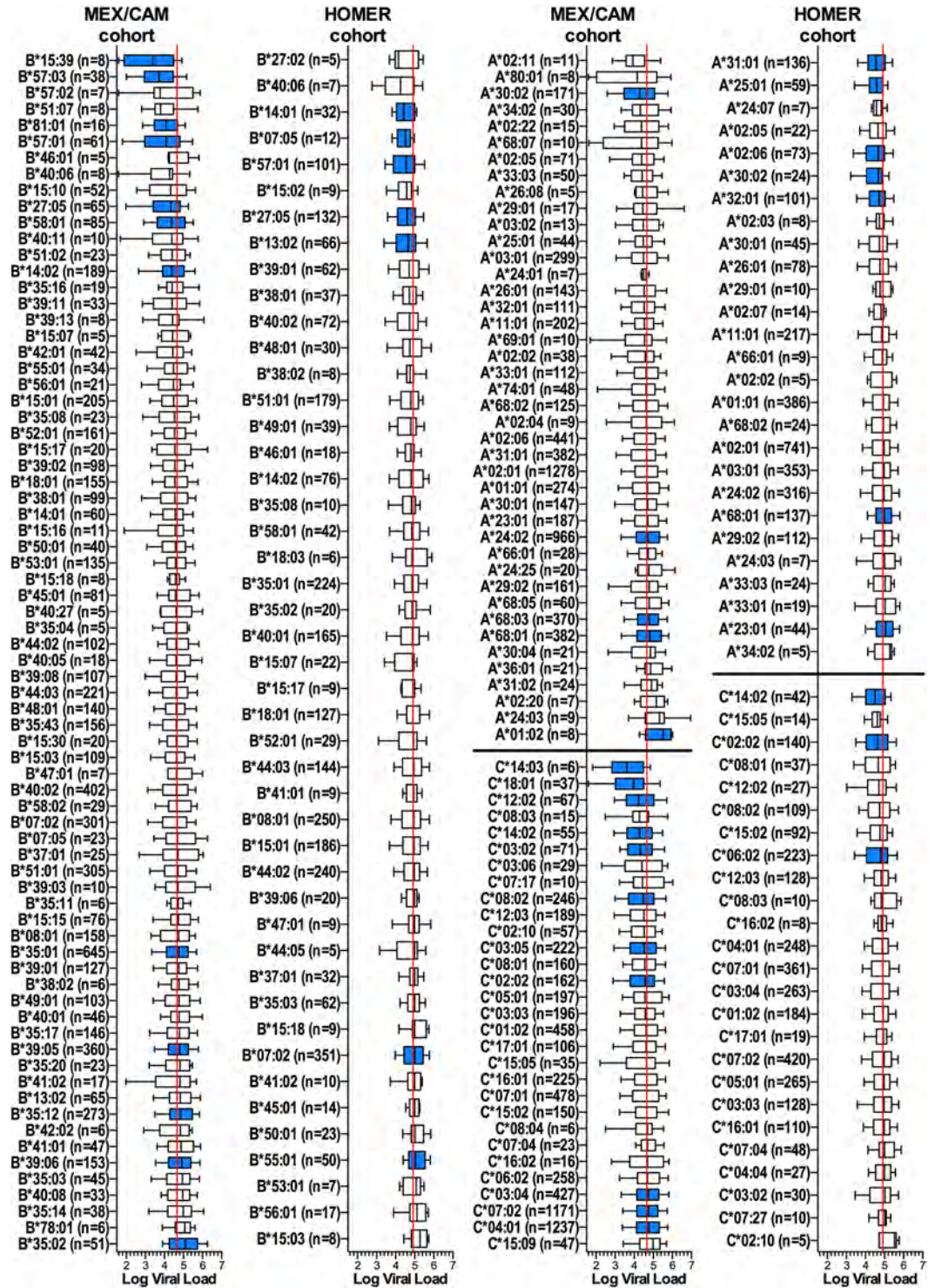


Figure 3. HLA associations with HIV pVL in the MEX/CAM and HOMER cohorts. Associations between HLA subtypes and pVL were investigated for HLA alleles with frequency equal or greater than 5 in HIV-1 clade B-infected ART-naïve individuals from the MEX/CAM (n = 3213) and predominantly Caucasian HOMER (n = 1622) cohorts. Associations between HLA alleles and pVL were evaluated using the Mann-Whitney U test, with multiple tests addressed using q-values. Significant (p < 0.05, q < 0.2) associations are highlighted in blue. Boxes denote median, 25th and 75th percentile, and whiskers represent the 10–90th percentile of pVL distributions of individuals expressing each *HLA-B* allele (left panels) and *HLA-A/C* allele (right panels). HLA alleles are ordered by their pVL median and the number (n) of individuals expressing each HLA allele is shown. Red vertical lines denote plasma viral load medians for each cohort.

| Number of alleles that were associated with at least one HIV clinical parameter | | | |
|---|----------------|------------|------------|
| HLA loci | MEX/CAM cohort | MEX cohort | CAM cohort |
| HLA-A | 13 | 5 | 11 |
| HLA-B | 24 | 11 | 8 |
| HLA-C | 14 | 9 | 6 |
| Number of associations by HIV clinical parameter | | | |
| HIV clinical parameter | MEX/CAM cohort | MEX cohort | CAM cohort |
| Plasma Viral Load | 28 | 14 | 11 |
| CD4 count | 30 | 14 | 18 |
| HIV Z-score | 30 | 15 | 16 |
| %CD4 | 27 | 13 | 10 |
| CD4/CD8 ratio | 26 | 14 | 12 |

Table 2. Summary of univariable analysis stratified by cohort. The number of HLA-HIV associations are shown by HLA loci (top) and by HIV clinical parameter (bottom).

association, LD *B*07:02*, *B*39:05*), and *A*11:01* (LD *B*39:05*); in all cases these alleles were significantly associated with all clinical variables except pVL. A total of 20 additional HLA alleles scored between +1 and +3; these included Amerindian alleles *B*15:39* (LD *C*03:03*) and *B*39:02* (LD *C*07:02*), both scoring +2, identifying these as novel protective alleles.

Similarly, 3 of the 5 HLA alleles that achieved the most negative score (−5) in MEX/CAM were Amerindian alleles; namely *B*39:05* (LD *C*07:02*, *A*68:03*, *A*02:06*, *A*23:01*), *B*35:12* (LD *C*04:01*, *A*02:01*) and *A*68:03* (LD *B*39:05*, *C*07:02*) (Fig. 4A), identifying these as novel risk alleles. A total of 15 additional HLA alleles scored between −4 and −1; among these Amerindian alleles *B*15:30* (LD *C*01:02*, score -3), *B*39:06* (LD *C*07:02*, *A*24:02*; score -2), *A*68:05* (score -2), and *B*35:14*, *C*03:04* (LD *B*40:02/01/05/08/11*, *A*68:01*), *B*39:01* (LD *C*07:02*, *C*12:03*) and *A*02:06* (LD *B*39:05*, *C*07:02*), (score -1), were also identified as novel risk alleles. Additional risk alleles included *B*35:01* (score -4, LD *C*04:01*, *C*07:01*, *C*08:02*, *C*01:02*), previously described as detrimental in some settings^{5,6,11,13,22,23} and *B*13:02* (score -1, LD *C*06:02*, *A*30:01*) previously described as protective^{1,17,24,25}. Analysis of MEX and CAM cohorts separately yielded results that corroborated the pooled analysis, but also revealed a small number of additional associations (Fig. 4B,C). In MEX, the latter included previously reported risk associations between HLA alleles and HIV disease progression including *C*16:01*²⁰, *A*23:01*^{11,18} and *B*37:01*^{11,22} (all scoring -1) as well as a novel risk association with *A*24:03* (score -1). In CAM, these included a protective association with *B*51:07*²³ (score +1), and risk associations with *C*03:03*²² and *A*36:01*^{5,24} (both scoring -1).

To further quantify effects of HLA alleles on HIV parameters, we repeated univariable analyses using generalized linear models (Supplementary Table S8). HLA-HIV scores derived from the GLM analysis were highly concordant with those obtained using the Mann-Whitney U test (Spearman rho >0.9 in the combined and individual cohorts, in all cases $p < 0.0001$, Supplementary Figure S2).

We next performed a multivariable analysis to correct for gender, age, geographic location of recruitment, as well as HLA alleles with the most significant associations for each HIV clinical parameter in the univariable analysis in both pooled and individual cohorts. Resulting regression coefficients and 95% confidence intervals are shown in Fig. 5 and Supplementary Table S9. Overall, HLA-HIV scores of univariable and multivariable analyses were highly concordant in all cohorts (Spearman's rho 0.8277, 0.8566, and 0.8057 in MEX/CAM, MEX and CAM respectively, all $p < 0.0001$; Fig. 6A–C). Importantly, the majority (10/15, 66.6%) of novel Amerindian HLA-HIV associations identified in the MEX/CAM univariable analyses remained significant following adjustment for these parameters; these included *A*03:01*, *B*15:39*, and *B*39:02* as protective alleles and *A*01:02*, *A*68:03*, *A*68:05*, *B*15:30*, *B*35:12*, *B*39:05* and *C*03:04* as risk alleles. When cohorts were analyzed separately, *A*03:01* (protective), *A*68:03*, *B*35:12*, and *B*39:05* (risk) remained significant after multivariable adjustment in both cohorts.

A second multivariable analysis was performed to account for HLA LD effects (Supplementary Table 10). The majority of HLA-HIV associations identified in univariable analyses of the pooled MEX/CAM cohort remained significant after multivariable correction: these included the novel protective alleles *A*03:01* (LD *B*07:02*, *B*39:05*), *B*15:39* (LD *C*03:03*) and *B*39:02* (LD *C*07:02*), and the detrimental *A*01:02* (LD *B*49:01*), *A*02:06* (LD *C*07:02*, *B*39:05*, *B*39:08*, *C*08:01*), *A*68:03* (LD *B*39:05*, *C*07:02*, *B*35:43*), *B*15:30* (LD *C*01:02*), *B*35:12* (LD *C*04:01*, *A*02:01*), and *C*03:04* (LD *B*40:01/02*, *B*15:10*, *B*40:05/08/11*, *A*68:01*) alleles. However, in some cases, the very strong LD between certain allele pairs (notably the protective *B*14:02~C*08:02* haplotype, which exhibited the strongest LD in the cohort [$p = 8.0E-195$], the risk *B*39:05~C*07:02* haplotype [LD $p = 3.9E-144$], and the risk *B*40:01~C*03:04* haplotype [LD $p = 2.6E-23$]) precluded identification of the allele driving the association. Moreover, several HLA-C associations (e.g. *C*02:02* as protective and *C*04:01* as risk) could be partially or completely explained by their LD with HLA-B alleles: e.g. *B*27:05* for *C*02:02*, and *B*35:01/02/12* for *C*04:01* (the apparent effect of *C*04:01* in strong LD with *B*35* alleles has been resolved previously⁹). Furthermore, some HLA-B alleles did not remain significant after LD correction. Among these were the new Amerindian risk alleles *B*39:01* and *B*39:06*, which are both in strong LD with *C*07:02*. As the latter allele is also in extremely strong LD with the risk and highly frequent allele *B*39:05*, it is possible that inclusion of *C*07:02* in the model confounds our ability to validate *B*39:01* and *B*39:06* as independent risk factors.

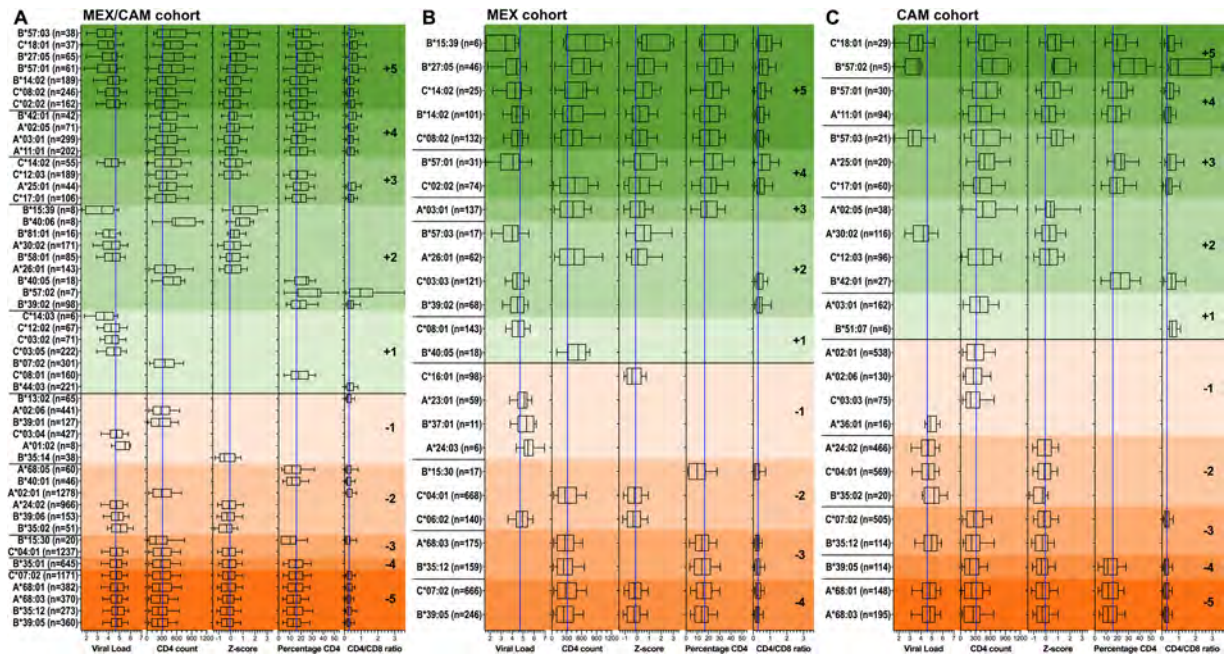


Figure 4. HLA-HIV associations in Mesoamerican cohorts using 5 HIV clinical parameters (univariable analysis). Associations between the expression of HLA class I alleles and 5 HIV clinical parameters (pVL, CD4 count, Z-score, CD4% and CD4/CD8 ratio) were investigated for alleles with frequency equal or greater than 5 in HIV-1 clade B-infected ART-naïve individuals from the pooled MEX/CAM cohort (A), only in MEX cohort (B) or only in CAM cohort (C). Associations were evaluated using the Mann-Whitney U test and multiple tests were addressed using q-values. Boxplots of only significant ($p < 0.05$, $q < 0.2$) HLA-HIV associations are shown. Alleles are grouped by HLA-HIV score (+5 to -5), then ordered by the median of Z-score, pVL, CD4 count, %CD4 and CD4/CD8 ratio. Protective and risk alleles are shaded with progressively deeper green and orange colors, respectively. Boxes denote the median, 25th and 75th percentile of the HIV clinical parameter of interest; whiskers represent the 10–90th percentile. The number (n =) of individuals expressing each HLA allele is shown. Blue vertical lines denote cohort median values for each parameter.

Secondary analyses using only pVL and CD4 count. Although the use of the 5-parameter scoring system enhanced sensitivity to identify associations (see discussion), HLA/HIV association studies have traditionally used pVL and CD4 count only^{5,11,17,20}. To facilitate direct comparison of our results to previous studies, results based on pVL and CD4 count only are provided in Supplementary Tables S8–S9. Correlation between the results of the 5- and 2-parameter scoring systems were robust for both univariable (all $\rho > 0.93$, in all cases $p < 0.0001$; Supplementary Figure S3, panels A–C) and multivariable analyses (all $\rho > 0.88$, in all cases $p < 0.0001$; Supplementary Figure S3, panels D–F).

Regional variation in HLA-HIV associations between MEX and CAM cohorts. Finally, we wished to investigate the extent to which HLA-HIV associations in MEX and CAM were universal versus region-specific. Taking the union of all HLA alleles that achieved a non-zero score in univariable analyses in either the MEX and/or CAM cohorts, we assessed the degree to which their scores correlated between cohorts using Spearman's correlation. Overall, the relationship was statistically significant but the strength of the correlation was rather modest (Spearman $\rho = 0.334$, $p = 0.032$, Fig. 6D). A total of 8 associations were shared between the MEX and CAM cohorts (protective: *B*57:01*, *B*57:03*, and *A*03:01*; detrimental: *B*39:05*, *A*68:03*, *C*07:02*, *B*35:12*, and *C*04:01*), while 16 were exclusive to MEX and 16 to CAM. It is important to note that these differences could be attributable, at least in part, to the significant HLA AF distribution differences between cohorts (Supplementary Figure S4), which in turn influences power to identify individual HLA associations below a predefined significance threshold. Nevertheless, this observation suggests that, while many HLA-HIV associations are common to both regions, others may be region-specific.

Discussion

In the present study, the largest and most comprehensive of its kind undertaken to date in the unique and highly genetically admixed Latin American Mestizo population, we characterized HLA allele frequency distributions, haplotype structures and identified both canonical and novel associations between HLA alleles and HIV control. To accomplish the latter, we implemented a novel scoring system based on five partially interrelated clinical parameters, an approach that allowed more nuanced classification of the consistency of associations observed. Indeed, despite the cross-sectional nature of our study and the fact that we investigated these associations during chronic HIV infection, we readily detected numerous canonical associations with HIV control (e.g. in MEX/CAM analysis: *B*57:01/03*, *B*27:05* and *B*14:02*; in MEX: *B*14:02* and *B*27:05*; in CAM: *B*57:02*; all with +5

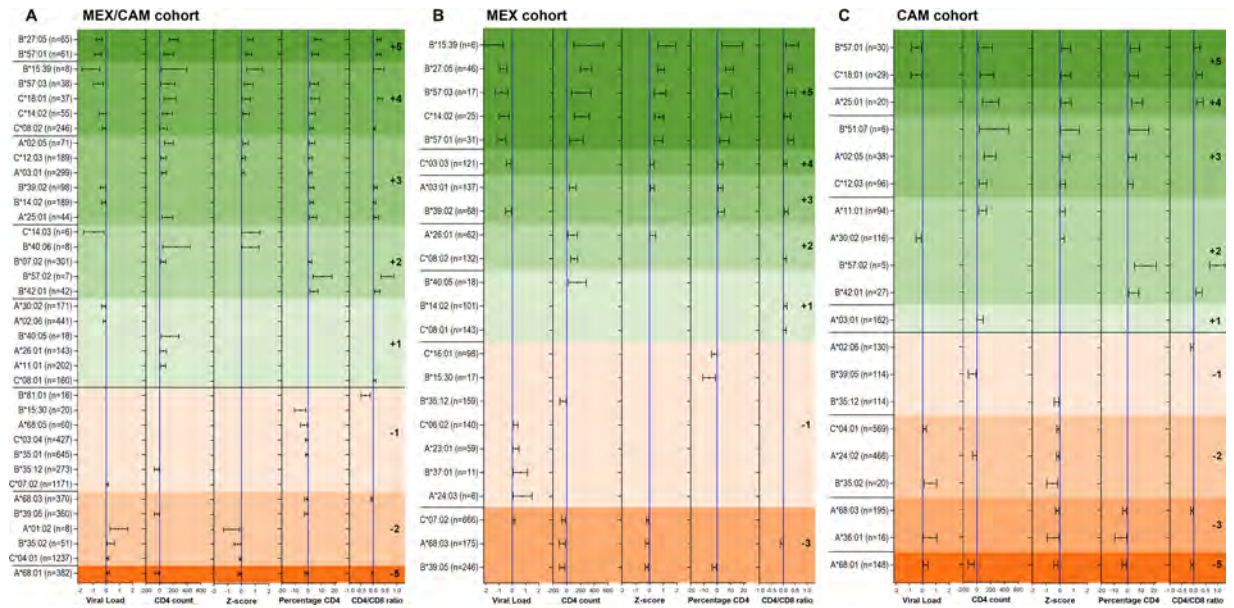


Figure 5. Multivariable analysis of HLA-HIV associations in Mesoamerican cohorts using 5 HIV clinical parameters. An independent linear regression model (GLM) was constructed for each HLA allele and clinical parameter, while adjusting for gender, age, geographical origin (country or region) and the presence of HLA alleles with $p < 0.001$ in the Mann-Whitney univariable analyses for each clinical parameter; see Supplementary Table S9 for specific HLA alleles adjusted for in each model). Coefficients and 95% confidence intervals (CI) of significant ($p < 0.05$, $q < 0.2$) associations are shown. Alleles are grouped by HLA-HIV score (+5 to -5), then ordered by the coefficient of Z-score, pVL, CD4 count, %CD4 and CD4/CD8 ratio. Protective and risk alleles are shaded with progressively deeper green and orange colors, respectively. The number ($n =$) of individuals expressing each HLA allele is shown. Blue vertical lines denote a coefficient equal to zero.

score), even though the frequencies of some of these alleles are significantly lower in MEX/CAM than in other global populations. The 5-parameter scoring system also allowed us to detect known protective alleles that were not identified using pVL and CD4 only, including *B*42:01*^{5,17,20}, *B*57:02*^{17,26} and *B*81:01*^{5,12,17,20}; furthermore it allowed us to distinguish strong association effects from weaker ones (e.g. all canonical protective associations, including *B*57:01*, *B*57:03* and *B*27:05* were associated with all 5 parameters). Confirmation of numerous other HLA associations previously reported in other HIV clade B-infected populations (e.g. *B*57:01*^{1,3,9,11,16,21,23}, *B*57:03*¹⁶, *B*27:05*^{1,3,9,11,23}, *B*44:03*²², *B*58:01*²², *B*14:02*^{3,16}, *A*25:01*^{1,11}, *B*35:02*^{1,6,9,11,23}) supports the accuracy of our analysis, and increases confidence in the novel associations found. Among the latter, HLA alleles enriched in Amerindian populations featured prominently, particularly among the risk alleles. These included *A*03:01*, *B*15:39* and *B*39:02* (identified as protective) and *A*01:02*, *A*24:03*, *A*68:03/05*, *B*15:30*, *B*35:12/14*, *B*39:01/06*, *B*39:05~C*07:02*, and *B*40:01~C*03:04* (identified as risk). Importantly, most protective and risk HLA alleles remained significant after accounting for potential confounding factors including age, gender, geographical location, HLA alleles with significant effects for each HIV clinical parameter, and HLA linkage disequilibrium, adding further confidence to our findings.

Of note, many of the novel risk HLA alleles identified in the present study are relatively common in Mesoamerica. Indeed, 35.2% (1133/3213) individuals in the MEX/CAM cohort, 40.2% (676/1679) in the MEX cohort and 29.7% (457/1534) in the CAM cohort expressed at least one risk HLA allele. Prevalence of risk alleles was particularly high in Guatemala (48%), El Salvador (42%) and the Southeastern Mexican states of Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz and Yucatan (overall 48%). These observations underscore the importance of implementing and sustaining culturally and locally-appropriate HIV prevention, diagnostic and early antiretroviral treatment programmes, particularly in regions characterized by populations with high Amerindian admixture.

Interestingly, both protective and risk HLA subtypes were identified within the common and genetically diverse Amerindian *HLA-B*39* allele group, including *B*39:02* (protective) and *B*39:05*, *B*39:01* and *B*39:06* (risk). HIV control by *B*39:02* might be explained by the presence of Glutamine in position 63 and Serine in position 67 (*HLA-B* amino acid positions previously associated with HIV control in genome-wide association studies^{3,54}) within the *HLA* peptide binding groove, which distinguish this allele from other *HLA-B*39* molecules. It is well-established that a difference of only one or two amino acids can influence the risk/protective status of closely-related HLA subtypes (e.g. between *B*42:01* and *B*42:02*; *B*57:03* and *B*57:02*; *B*35:01* and *B*35:02/03*; *B*44:02* and *B*44:03*^{9,55-63}), suggesting that a similar mechanism could underlie the differences between *HLA-B*39* subtypes. Of note, *B*39:02* attained a protective score of +2 in univariable (%CD4, CD4/CD8) and +3 in multivariable (pVL, %CD4, CD4/CD8) analyses in the pooled (MEX/CAM) and +2 in univariable (pVL, CD4/CD8) and +3 in multivariable (pVL, %CD4, CD4/CD8) analyses in MEX-only cohort (though it was not identified as significantly protective in CAM only, possibly as a result of significantly lower power on account of

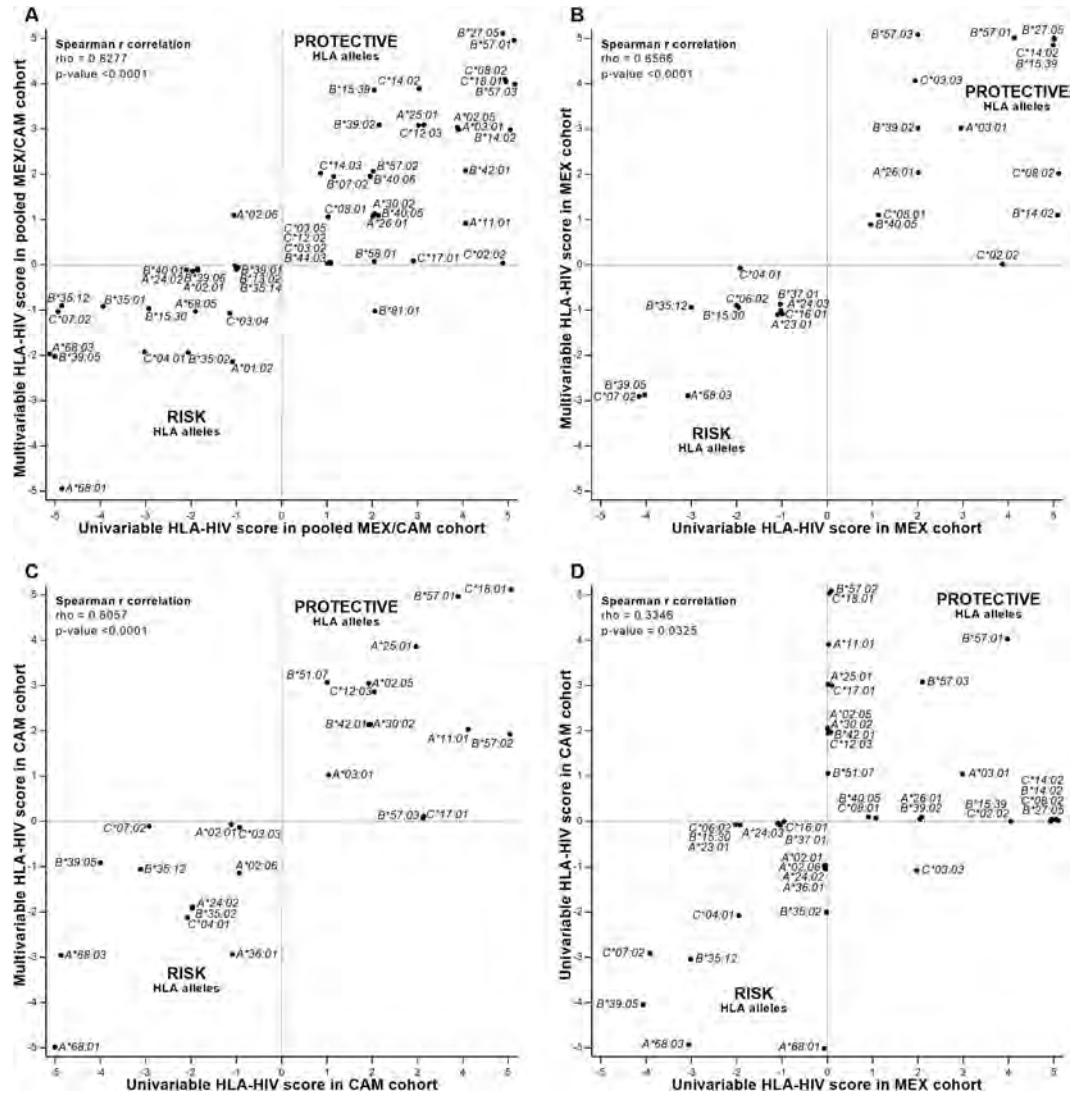


Figure 6. Correlation of 5-parameter HLA-HIV association scores within and between cohorts Scatter plot of univariable (Mann-Whitney) and multivariable HLA-HIV scores in the combined MEX/CAM (A), MEX (B) and CAM (C) cohorts. Panel (D) shows a scatter plot of univariable HLA-HIV scores between MEX and CAM cohorts. Correlation between HLA-HIV scores were determined using Spearman's rank test. Random jittering was used to prevent dots being superimposed. For A, B & C panels only HLA alleles with at least one association with a HIV clinical parameter were considered.

its lower frequency in CAM [AF = 0.009] compared to MEX [AF = 0.02]; $p = 0.0004$, $q < 0.001$ [Supplementary Figure S4]). Moreover, *B*39:02*-associated protection was not attributable to co-expression of other advantageous *HLA-B* alleles; in fact, a number of *B*39:02*-expressing individuals co-expressed risk alleles including *B*35:01/02/03/12* and *B*39:06*, suggesting that *B*39:02*-associated protective effects may overcome risks associated with deleterious HLA alleles. Consistent with anti-Gag (particularly p24) CD8⁺ T-cell responses as key determinants of HIV control^{61,64–67}, we previously identified two highly significant *B*39:02*-associated polymorphisms in Gag (at codons 315 and 319, both in p24) and three in Pol (at codons 70 and 79 in protease, and 322 in reverse transcriptase)⁴⁰, suggesting strong and reproducible targeting of these regions by *B*39:02*-restricted T-cell responses as possible determinants of *B*39:02*-mediated HIV control, where such effects remain detectable into chronic HIV-1 infection. Interestingly, *B*39:02* has been previously associated with Takayasu's arteritis, a rare autoimmune disease, in Japanese and Mexican populations^{68–73}, and also with spondyloarthropathies in Japan⁷⁴, observations which mirror established links between HLA alleles canonically associated with HIV protection (e.g. *B*27:05*) and autoimmune conditions^{75–77}.

In contrast, the common Amerindian *B*39:05* subtype (the 3rd most frequent *HLA-B* allele in MEX/CAM [AF = 0.057]) consistently ranked among the strongest risk alleles (score -5 MEX/CAM, -4 MEX and -4 CAM) even after multivariable correction (though it is important to note that this allele is in strong LD with *C*07:02*). Notably, *B*39:05* was not identified as mounting strong immune pressures in Gag p24, but rather in Pol⁴⁰ (at codons 37, 134 and 296). Similarly, no significant Gag codons have been identified as being under strong immune

pressure by the Amerindian *B*39:01*, *B*39:06* and *B*35:14* alleles⁴⁰, which were also identified as risk alleles in univariable analyses in the combined MEX/CAM cohort. The common Amerindian *B*35:12* subtype (the 6th most frequent *HLA-B* allele in MEX/CAM [AF = 0.042]) was also consistently identified as a risk allele (univariable score -5 in MEX/CAM, -3 in MEX and -3 in CAM; multivariable score -1 in MEX/CAM, -1 in MEX and -2 in CAM). Indeed, by virtue of its similarity with other *B*35-Px* members, notably *B*35:02/03*, at positions 114 and 116 in the HLA peptide binding groove⁷⁸, *B*35:12* represents a putative new member of the established *B*35-Px* HIV risk allele group⁹.

A number of caveats and considerations merit mention. First, it is important to note the interrelated nature of the five clinical parameters evaluated (e.g. in the MEX/CAM cohort, Spearman rho between pVL and CD4, %CD4 and CD4/CD8 was -0.54 in all cases; Spearman rho between pVL and Z-score was -0.87; Spearman rho for CD4 and Z-score, %CD4 and CD4/CD8 was > 0.79 in all cases). Despite these relatively strong relationships however, pVL and CD4 are nevertheless well-established as independent predictors of HIV progression; as such it is customary to include both in HLA association studies (e.g.^{17,19}). Similarly, inclusion of all 5 variables in our scoring system afforded us increased sensitivity to detect both previously-described HLA-HIV associations (e.g. in MEX/CAM univariable: *B*57:02*^{17,26} [score + 2, %CD4 and CD4/CD8], *B*44:03*^{5,17,22} [score + 1, CD4/CD8] and *C*08:01*²⁰ [score + 1, %CD4]; in MEX/CAM multivariable: *B*42:01*^{5,17,20} [score + 2, %CD4 and CD4/CD8], *B*57:02*^{17,26} [score + 2, %CD4 and CD4/CD8] and *C*08:01*²⁰ [score + 1, CD4/CD8]) as well as novel ones (e.g. in MEX/CAM univariable: *B*39:02* [score + 2, %CD4, CD4/CD8], *A*68:05* [score -2, %CD4 and CD4/CD8], *B*35:14* [score -1, Z-score] and *B*40:01* [score -2, %CD4 and CD4/CD8]). It also allowed us to identify associations with rare HLA alleles (e.g. in MEX/CAM univariable: *B*40:06*²² [n = 8, score + 2], *B*81:01*^{5,12,17,20} [n = 16, score + 2], *C*14:03*²² [n = 6, score + 1]; in MEX/CAM multivariable: *B*57:02*^{17,26} [n = 7, score + 2] and *B*81:01*^{5,12,17,20} [n = 16, score -1]). Similarly, the observation that canonical protective associations including *B*57:01*, *B*57:03* and *B*27:05* all achieved the highest protective score (+5) also increases confidence in our identification of *B*39:05* and *B*35:12*, which both achieved the lowest scores (-5), as novel risk alleles. Moreover, the observation that some HLA alleles showed associations with different HIV clinical parameters raises the intriguing possibility that certain HLA subtypes influence HIV progression through different mechanisms (though insufficient power to detect relatively weak associations, combined with the use of a predefined significance threshold, cannot be ruled out). As with all HLA association studies, strong linkage disequilibrium, particularly between *HLA-B* and *HLA-C* loci located in close proximity within the MHC's beta block gene group⁷⁹⁻⁸¹ makes it difficult to tease apart individual allele effects in some cases. Associations between certain *HLA-C* alleles and HIV clinical parameters may thus be partially or completely attributable to LD with *HLA-B* alleles (e.g. *B*27:05* for *C*02:02* and *B*35:12* for *C*04:01*). Moreover, for three *HLA-B~C* combinations (*B*14:02~C*08:02*, *B*39:05~C*07:02* and *B*40:01~C*03:04*), the allele responsible for the observed association could not be resolved due to strong LD. Similarly, we cannot rule out the possibility of additive and/or synergistic effects between HLA alleles. Finally, the risk of spurious associations is an ever-present concern in HLA association studies, particularly when reporting novel associations with relatively rare alleles (e.g. the protective *B*15:39* or the detrimental *A*01:02* alleles, both observed in 8 individuals only). Validation of these novel associations in other cohorts, along with elucidation of possible mechanisms, are therefore warranted. In particular, the evaluation of HIV-specific CTL responses in Latin American individuals expressing protective or risk HLA alleles should provide important mechanistic insights. Despite these caveats, our study further confirms that some HLA allele associations (e.g. *B*27:05* and *B*57:01*) transcend the boundaries of race and HIV subtype, whereas others are likely to be particular to the unique immunogenetic background of the population under study.

Results of our study may also be relevant to the ultimate pursuit of effective HIV vaccines, whether be prophylactic or therapeutic, global or geographically-tailored. In particular, detailed characterization (and continuous monitoring⁸²) of HLA associations with HIV clinical parameters in ethnically diverse human populations hardest hit by the HIV epidemic may help inform the design of CTL epitope-based vaccine constructs⁸³, predict the relative population coverage of such constructs, and ultimately aid in the interpretation of results from future HIV vaccine trials in a population-specific context.

References

1. Fellay, J. *et al.* Common genetic variation and the control of HIV-1 in humans. *PLoS Genet* **5**, e1000791, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000791> (2009).
2. Fellay, J. *et al.* A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science* **317**, 944–947, <https://doi.org/10.1126/science.1143767> (2007).
3. International_HIV_Controller_Study *et al.* The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science* **330**, 1551–1557, <https://doi.org/10.1126/science.1195271> (2010).
4. Kroner, B. L. *et al.* Concordance of human leukocyte antigen haplotype-sharing, CD4 decline and AIDS in hemophilic siblings. Multicenter Hemophilia Cohort and Hemophilia Growth and Development Studies. *AIDS* **9**, 275–280 (1995).
5. Carlson, J. M. *et al.* Widespread impact of HLA restriction on immune control and escape pathways of HIV-1. *Journal of virology* **86**, 5230–5243, <https://doi.org/10.1128/JVI.06728-11> (2012).
6. Carrington, M. *et al.* HLA and HIV-1: heterozygote advantage and *B*35-Cw*04* disadvantage. *Science* **283**, 1748–1752 (1999).
7. Carrington, M. & O'Brien, S. J. The influence of HLA genotype on AIDS. *Annual review of medicine* **54**, 535–551, <https://doi.org/10.1146/annurev.med.54.101601.152346> (2003).
8. Costello, C. *et al.* HLA-B*5703 independently associated with slower HIV-1 disease progression in Rwandan women. *AIDS* **13**, 1990–1991 (1999).
9. Gao, X. *et al.* Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. *N Engl J Med* **344**, 1668–1675, <https://doi.org/10.1056/NEJM200105313442203> (2001).
10. Honeyborne, I. *et al.* Control of human immunodeficiency virus type 1 is associated with HLA-B*13 and targeting of multiple gag-specific CD8+ T-cell epitopes. *Journal of virology* **81**, 3667–3672, <https://doi.org/10.1128/JVI.02689-06> (2007).
11. Kaslow, R. A. *et al.* Influence of combinations of human major histocompatibility complex genes on the course of HIV-1 infection. *Nature medicine* **2**, 405–411 (1996).

12. Kiepiela, P. *et al.* Dominant influence of HLA-B in mediating the potential co-evolution of HIV and HLA. *Nature* **432**, 769–775, <https://doi.org/10.1038/nature03113> (2004).
13. Klein, M. R. *et al.* Associations between HLA frequencies and pathogenic features of human immunodeficiency virus type 1 infection in seroconverters from the Amsterdam cohort of homosexual men. *The Journal of infectious diseases* **169**, 1244–1249 (1994).
14. Koehler, R. N. *et al.* Class I HLA-A*7401 is associated with protection from HIV-1 acquisition and disease progression in Mbeya, Tanzania. *The Journal of infectious diseases* **202**, 1562–1566, <https://doi.org/10.1086/656913> (2010).
15. Lazaryan, A. *et al.* Human leukocyte antigen B58 supertype and human immunodeficiency virus type 1 infection in native Africans. *Journal of virology* **80**, 6056–6060, <https://doi.org/10.1128/JVI.02119-05> (2006).
16. Lazaryan, A. *et al.* The influence of human leukocyte antigen class I alleles and their population frequencies on human immunodeficiency virus type 1 control among African Americans. *Human immunology* **72**, 312–318, <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2011.01.003> (2011).
17. Leslie, A. *et al.* Additive contribution of HLA class I alleles in the immune control of HIV-1 infection. *Journal of virology* **84**, 9879–9888, <https://doi.org/10.1128/JVI.00320-10> (2010).
18. MacDonald, K. S. *et al.* Influence of HLA supertypes on susceptibility and resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection. *The Journal of infectious diseases* **181**, 1581–1589, <https://doi.org/10.1086/315472> (2000).
19. Matthews, P. C. *et al.* HLA-A*7401-mediated control of HIV viremia is independent of its linkage disequilibrium with HLA-B*5703. *J Immunol* **186**, 5675–5686, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003711> (2011).
20. Matthews, P. C. *et al.* Co-operative additive effects between HLA alleles in control of HIV-1. *PLoS One* **7**, e47799, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047799> (2012).
21. Migueles, S. A. *et al.* HLA B*5701 is highly associated with restriction of virus replication in a subgroup of HIV-infected long term nonprogressors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**, 2709–2714, <https://doi.org/10.1073/pnas.050567397> (2000).
22. Naruto, T. *et al.* HLA class I-mediated control of HIV-1 in the Japanese population, in which the protective HLA-B*57 and HLA-B*27 alleles are absent. *Journal of virology* **86**, 10870–10872, <https://doi.org/10.1128/JVI.00689-12> (2012).
23. O'Brien, S. J., Gao, X. & Carrington, M. HLA and AIDS: a cautionary tale. *Trends in molecular medicine* **7**, 379–381 (2001).
24. Tang, J. *et al.* Human leukocyte antigens and HIV type 1 viral load in early and chronic infection: predominance of evolving relationships. *PLoS One* **5**, e9629, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009629> (2010).
25. Tang, J. *et al.* Favorable and unfavorable HLA class I alleles and haplotypes in Zambians predominantly infected with clade C human immunodeficiency virus type 1. *Journal of virology* **76**, 8276–8284 (2002).
26. Klooverpris, H. N. *et al.* HLA-B*57 Micropolymorphism shapes HLA allele-specific epitope immunogenicity, selection pressure, and HIV immune control. *Journal of virology* **86**, 919–929, <https://doi.org/10.1128/JVI.06150-11> (2012).
27. Barquera, R. *et al.* HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Molecular immunology* **45**, 1171–1178, <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.07.042> (2008).
28. Zuniga, J. *et al.* HLA class I and class II conserved extended haplotypes and their fragments or blocks in Mexicans: implications for the study of genetic diversity in admixed populations. *PLoS One* **8**, e74442, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074442> (2013).
29. Brumme, Z. L. *et al.* Evidence of differential HLA class I-mediated viral evolution in functional and accessory/regulatory genes of HIV-1. *PLoS Pathog* **3**, e94, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030094> (2007).
30. Brumme, Z. L. *et al.* HLA-associated immune escape pathways in HIV-1 subtype B Gag, Pol and Nef proteins. *PLoS One* **4**, e6687, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006687> (2009).
31. Avila-Rios, S. *et al.* HIV-1 drug resistance surveillance in antiretroviral treatment-naïve individuals from a reference hospital in Guatemala, 2010–2013. *AIDS Res Hum Retroviruses* **31**, 401–411, <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0057> (2015).
32. Avila-Rios, S. *et al.* HIV Drug Resistance Surveillance in Honduras after a Decade of Widespread Antiretroviral Therapy. *PLoS One* **10**, e0142604, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142604> (2015).
33. Avila-Rios, S. *et al.* HIV Drug Resistance in Antiretroviral Treatment-Naïve Individuals in the Largest Public Hospital in Nicaragua, 2011–2015. *PLoS One* **11**, e0164156, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164156> (2016).
34. Mendoza, Y. *et al.* Molecular epidemiology of HIV-1 in Panama: origin of non-B subtypes in samples collected from 2007 to 2013. *PLoS One* **9**, e85153, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085153> (2014).
35. Patterson, S. *et al.* Cohort Profile: HAART Observational Medical Evaluation and Research (HOMER) cohort. *Int J Epidemiol* **44**, 58–67, <https://doi.org/10.1093/ije/dyu046> (2015).
36. Listgarten, J. *et al.* Statistical resolution of ambiguous HLA typing data. *PLoS computational biology* **4**, e1000016, <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000016> (2008).
37. Siepel, A. C., Halpern, A. L., Macken, C. & Korber, B. T. A computer program designed to screen rapidly for HIV type 1 intersubtype recombinant sequences. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11**, 1413–1416, <https://doi.org/10.1089/aid.1995.11.1413> (1995).
38. Cotton, L. A. *et al.* HLA class I sequence-based typing using DNA recovered from frozen plasma. *J Immunol Methods* **382**, 40–47, <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.05.003> (2012).
39. Mack, S. J. *et al.* Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue antigens* **81**, 194–203, <https://doi.org/10.1111/tan.12093> (2013).
40. Soto-Nava, M. *et al.* Weaker HLA Footprints on HIV in the Unique and Highly Genetically Admixed Host Population of Mexico. *Journal of virology* **92**, <https://doi.org/10.1128/JVI.01128-17> (2018).
41. Kumasaka, N., Nakamura, Y. & Kamatani, N. The textile plot: a new linkage disequilibrium display of multiple-single nucleotide polymorphism genotype data. *PLoS One* **5**, e10207, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010207> (2010).
42. Carlson, J., Heckerman, D. & G, S. False Discovery Rate Calculator for 2x2 Contingency Tables. (<https://mscompbio.codeplex.com/wikipage?title=False%20Discovery%20Rate&referrerTitle=Home>, 2009).
43. Mellors, J. W. *et al.* Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* **272**, 1167–1170 (1996).
44. Mellors, J. W. *et al.* Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* **126**, 946–954 (1997).
45. Fahey, J. L. *et al.* The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* **322**, 166–172, <https://doi.org/10.1056/NEJM199001183220305> (1990).
46. Garrido-Rodriguez, D. *et al.* Killer cell immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen gene profiles in a cohort of HIV-infected Mexican Mestizos. *Immunogenetics* **68**, 703–717, <https://doi.org/10.1007/s00251-016-0920-3> (2016).
47. Storey, J. D. A direct approach to false discovery rates. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)* **64**, 479–498 (2002).
48. R., Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R foundation for Statistical Computing. (<http://www.r-project.org/>) v. 3.3.3 (Vienna, Austria, 2013).
49. De Boni, R., Veloso, V. G. & Grinsztejn, B. Epidemiology of HIV in Latin America and the Caribbean. *Curr Opin HIV AIDS* **9**, 192–198, <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000031> (2014).
50. Gragert, L., Madbouly, A., Freeman, J. & Maiers, M. Six-locus high resolution HLA haplotype frequencies derived from mixed-resolution DNA typing for the entire US donor registry. *Human immunology* **74**, 1313–1320, <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2013.06.025> (2013).

51. Avila-Rios, S. *et al.* Unique features of HLA-mediated HIV evolution in a Mexican cohort: a comparative study. *Retrovirology* **6**, 72, <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-72> (2009).
52. Dorak, M. T. *et al.* Influence of human leukocyte antigen-B22 alleles on the course of human immunodeficiency virus type 1 infection in 3 cohorts of white men. *The Journal of infectious diseases* **188**, 856–863, <https://doi.org/10.1086/378071> (2003).
53. Hendel, H. *et al.* New class I and II HLA alleles strongly associated with opposite patterns of progression to AIDS. *J Immunol* **162**, 6942–6946 (1999).
54. McLaren, P. J. *et al.* Polymorphisms of large effect explain the majority of the host genetic contribution to variation of HIV-1 virus load. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **112**, 14658–14663, <https://doi.org/10.1073/pnas.1514867112> (2015).
55. Kloverpris, H. N. *et al.* HIV control through a single nucleotide on the HLA-B locus. *Journal of virology* **86**, 11493–11500, <https://doi.org/10.1128/JVI.01020-12> (2012).
56. Archbold, J. K. *et al.* Natural micropolymorphism in human leukocyte antigens provides a basis for genetic control of antigen recognition. *The Journal of experimental medicine* **206**, 209–219, <https://doi.org/10.1084/jem.20082136> (2009).
57. Bade-Doding, C. *et al.* The impact of human leukocyte antigen (HLA) micropolymorphism on ligand specificity within the HLA-B*41 allotypic family. *Haematologica* **96**, 110–118, <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.030924> (2011).
58. Burrows, J. M. *et al.* The impact of HLA-B micropolymorphism outside primary peptide anchor pockets on the CTL response to CMV. *Eur J Immunol* **37**, 946–953, <https://doi.org/10.1002/eji.200636588> (2007).
59. Green, K. J. *et al.* Potent T cell response to a class I-binding 13-mer viral epitope and the influence of HLA micropolymorphism in controlling epitope length. *Eur J Immunol* **34**, 2510–2519, <https://doi.org/10.1002/eji.200425193> (2004).
60. Huang, K. H. *et al.* Progression to AIDS in South Africa is associated with both reverting and compensatory viral mutations. *PLoS One* **6**, e19018, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019018> (2011).
61. Kiepiela, P. *et al.* CD8+ T-cell responses to different HIV proteins have discordant associations with viral load. *Nature medicine* **13**, 46–53, <https://doi.org/10.1038/nm1520> (2007).
62. Macdonald, W. A. *et al.* A naturally selected dimorphism within the HLA-B44 supertype alters class I structure, peptide repertoire, and T cell recognition. *The Journal of experimental medicine* **198**, 679–691, <https://doi.org/10.1084/jem.20030066> (2003).
63. Zernich, D. *et al.* Natural HLA class I polymorphism controls the pathway of antigen presentation and susceptibility to viral evasion. *The Journal of experimental medicine* **200**, 13–24, <https://doi.org/10.1084/jem.20031680> (2004).
64. Edwards, B. H. *et al.* Magnitude of functional CD8+ T-cell responses to the gag protein of human immunodeficiency virus type 1 correlates inversely with viral load in plasma. *Journal of virology* **76**, 2298–2305 (2002).
65. Klein, M. R. *et al.* Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *The Journal of experimental medicine* **181**, 1365–1372 (1995).
66. Riviere, Y. *et al.* Gag-specific cytotoxic responses to HIV type 1 are associated with a decreased risk of progression to AIDS-related complex or AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11**, 903–907 (1995).
67. Zuniga, R. *et al.* Relative dominance of Gag p24-specific cytotoxic T lymphocytes is associated with human immunodeficiency virus control. *Journal of virology* **80**, 3122–3125, <https://doi.org/10.1128/JVI.80.6.3122-3125.2006> (2006).
68. Kimura, A., Kitamura, H., Date, Y. & Numano, F. Comprehensive analysis of HLA genes in Takayasu arteritis in Japan. *Int J Cardiol* **54**, Suppl, S61–69 (1996).
69. Kimura, A. *et al.* Mapping of the HLA-linked genes controlling the susceptibility to Takayasu's arteritis. *Int J Cardiol* **75** Suppl 1, S105–110; discussion S111–102 (2000).
70. Kitamura, H., Kobayashi, Y., Kimura, A. & Numano, F. Association of clinical manifestations with HLA-B alleles in Takayasu arteritis. *Int J Cardiol* **66**(Suppl 1), S121–126 (1998).
71. Renauer, P. & Sawalha, A. H. The genetics of Takayasu arteritis. *Presse Med* **46**, e179–e187, <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.11.031> (2017).
72. Vargas-Alarcon, G. *et al.* Comparative study of the residues 63 and 67 on the HLA-B molecule in patients with Takayasu's Arteritis. *Immunol Lett* **96**, 225–229, <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.08.009> (2005).
73. Yoshida, M., Kimura, A., Katsuragi, K., Numano, F. & Sasazuki, T. DNA typing of HLA-B gene in Takayasu's arteritis. *Tissue antigens* **42**, 87–90 (1993).
74. Yamaguchi, A. *et al.* Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* **38**, 1672–1677 (1995).
75. Cortes, A. *et al.* Major histocompatibility complex associations of ankylosing spondylitis are complex and involve further epistasis with ERAP1. *Nat Commun* **6**, 7146, <https://doi.org/10.1038/ncomms8146> (2015).
76. Chen, H. *et al.* Psoriasis patients are enriched for genetic variants that protect against HIV-1 disease. *PLoS Genet* **8**, e1002514, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002514> (2012).
77. Matzaraki, V., Kumar, V., Wijmenga, C. & Zhernakova, A. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. *Genome Biol* **18**, 76, <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1207-1> (2017).
78. Juarez-Molina, C. I. *et al.* Impact of HLA-B*35 subtype differences on HIV disease outcome in Mexico. *AIDS* **28**, 1687–1690, <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000322> (2014).
79. Dawkins, R. *et al.* Genomics of the major histocompatibility complex: haplotypes, duplication, retroviruses and disease. *Immunol Rev* **167**, 275–304 (1999).
80. Yunis, E. J. *et al.* Inheritable variable sizes of DNA stretches in the human MHC: conserved extended haplotypes and their fragments or blocks. *Tissue antigens* **62**, 1–20 (2003).
81. Romero, V. *et al.* Genetic fixity in the human major histocompatibility complex and block size diversity in the class I region including HLA-E. *BMC Genet* **8**, 14, <https://doi.org/10.1186/1471-2156-8-14> (2007).
82. Kawashima, Y. *et al.* Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature* **458**, 641–645, <https://doi.org/10.1038/nature07746> (2009).
83. Novitsky, V. *et al.* Identification of human immunodeficiency virus type 1 subtype C Gag-, Tat-, Rev-, and Nef-specific elispot-based cytotoxic T-lymphocyte responses for AIDS vaccine design. *Journal of virology* **75**, 9210–9228, <https://doi.org/10.1128/JVI.75.19.9210-9228.2001> (2001).

Acknowledgements

This work was funded by the Mexican Government (Comisión de Equidad y Género de las Legislaturas LX-LXI, Comisión de Igualdad de Género de la Legislatura LXII de la H. Cámara de Diputados) and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, SALUD-2013–01–202475). This work was also supported in part by a grant from the Canadian Institutes for Health Research (CIHR) to ZLB, SAR, GRT and MAB (PJT-148621). HVP is a doctoral student from Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), and received a scholarship (registry 245172) from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). MAB is a Tier II Canada Research Chair in Viral Pathogenesis and Immunity. ZLB is supported by a Scholar Award from the Michael Smith Foundation for Health Research. CJB is supported by

a Postgraduate Fellowship from CIHR (MFE-146750). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. We would like to thank CIENT's Virological Diagnostic Laboratory staff (Carolina Demenegui, Mario Preciado), administrative staff (Zeidy Arenas, Guadalupe Hernández, María de Jesús Espinosa, Berenice Cancino, and Eduardo López), Molecular Biology Laboratory staff, and informatics staff (Pablo César, Héctor Esteban Paz). We would like to give a special thank you to all individuals who took part in this study.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: H.V.P., S.A.R., C.J.B., Z.L.B., G.R.T. Recruited participant subjects in the Mexican states and Central American countries, applied demographic and clinical questionnaires, and managed the shipment of blood samples: C.G.M., D.T.T., A.M.O., C.M.V., I.Y.E.U., R.P.M., J.M.P., Y.Z., G.P.C., C.Q.D., I.L., R.I.M., E.Y.P., M.M., R.A.C. HOMER reference cohort: P.R.H., Z.L.B., M.A.B., C.J.B., HLA typing: H.V.P., S.A.H., D.G.R., M.S.N., T.G.T., T.E.G., V.S.Q.M., S.A.S., C.A. Plasma H.I.V. viral load and flow cytometry counts: E.R.A., R.H.J. Managed cohort clinical, demographic and HLA data: C.G.M., D.T.T., H.V.P. Analyzed the data: H.V.P., S.A.H., E.J.P.G., C.J.B. Prepared all figures: H.V.P., M.S.N. Wrote the paper: H.V.P., S.A.R., C.J.B., Z.L.B., G.R.T. All authors contributed to the critical revision of the manuscript and saw and approved the final version.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23849-7>.

Competing Interests: The authors declare no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2018

Consortia The Mesoamerican HIV Project Group

Karla A. Romero-Mora¹, María Gómez-Palacio¹, Sandra Pinto-Cardoso¹, Sabrina Navas², Leticia García², Cristina Quintana², Yaxelis Mendoza³, Sumaya Moreira⁵, Bismarck Hernández⁵, Wendy Murillo⁶, Candy Carbajal⁶, Leda Parham⁶, Diana Valladares¹⁵, Luisa Pineda¹⁵, Dixiana Flores¹⁶, Roxana Motiño¹⁶, Víctor Umanzor¹⁷, Oneyda Méndez¹⁷, Nadina Romero¹⁷, Jonahi Lizama⁹, María L. Méndez¹⁸, David de los Santos Cebrero¹⁸, César Rivera-Benitez¹⁹, Juan Sierra-Madero²⁰, Audelia Alanis-Vega²⁰, Luz A. González-Hernández²¹, Jaime Andrade-Villanueva²¹, Jaime Álvarez-Zayas²², Héctor Carrillo-Martínez²³, José L. Centeno²⁴, Everardo Barreto²⁴, Tanya Campos²⁴, Jesús Oaxaca-Navarro²⁵, Ricardo Aya de la Fuente²⁶, César A. Carrasco-Ayala²⁷, Lesvia M. Rivera-Abarca²⁷, Gabriela Velázquez²⁷, Elizabeth Papaqui-Limón²⁸, Indiana Torres-Escobar²⁸, María J. del Carmen-Ricalde²⁹, David Valenzo-Loaeza²⁹, Carlos A. Barrera-Arellano²⁹, Adrián Flores-Gaxiola³⁰, Carlos A. Avilez-Gaxiola³¹, Adonay Jiménez-Jiménez³², Juan Beltrán-Saldaña³³, Arturo Arteaga-Martínez³⁴, Elizabeth Domínguez-Ramírez³⁵, Jorge M. de la Roca-Chiapas³⁶, Miriam J. García-Collins³⁷, Hilda Basilio-Badillo³⁷, Dulce M. Cruz-Lavadores³⁸, Carlos R. González-Álvarez³⁸, Luis E. Arias-Tlaculio³⁹ & Samuel Navarro-Álvarez⁴⁰

¹⁵Mario Catarino Rivas Hospital, San Pedro Sula, Honduras. ¹⁶Atlantida Hospital, La Ceiba, Honduras. ¹⁷Hospital del Sur, Choluteca, Honduras. ¹⁸CAPASITS Acapulco, Guerrero, Mexico. ¹⁹General Hospital, Mexico City, Mexico. ²⁰National Institute of Medical Sciences and Nutrition, Mexico City, Mexico. ²¹Civil Hospital Fray Antonio Alcalde, Guadalajara, Mexico. ²²CAPASITS Puerto Vallarta, Jalisco, Mexico. ²³CAPASITS Nezahualcóyotl, State of Mexico, Mexico. ²⁴CAPASITS Tlalnepantla, State of Mexico, Mexico. ²⁵CAPASITS Cuernavaca, Morelos, Mexico. ²⁶CAPASITS Monterrey, Nuevo Leon, Mexico. ²⁷SEAI Oaxaca, Oaxaca, Mexico. ²⁸CAPASITS Puebla, Puebla, Mexico. ²⁹CAPASITS Cancún, Quintana Roo, Mexico. ³⁰CAPASITS Culiacán, Sinaloa, Mexico. ³¹CAPASITS Hermosillo, Sonora, Mexico. ³²Dr. Juan Graham Casassus Hospital, Tabasco, Mexico. ³³CAPASITS Tampico, Tamaulipas, Mexico. ³⁴General Hospital, Veracruz, Mexico. ³⁵Subregional Hospital (Coatzacoalcos), Veracruz, Mexico. ³⁶Subregional Hospital (Río Blanco), Veracruz, Mexico. ³⁷Subregional Hospital (Poza Rica), Veracruz, Mexico. ³⁸CAPASITS Mérida, Yucatan, Mexico. ³⁹CAPASITS Valladolid, Yucatan, Mexico. ⁴⁰General Hospital Tijuana, Baja California, Mexico.

5. Kaplan RC, Sinclair E, Landay AL, Lurain N, Sharrett AR, Gange SJ, *et al.* **T cell activation and senescence predict subclinical carotid artery disease in HIV-infected women.** *J Infect Dis* 2011; **203**:452–463.
6. Massanella M, Esteve A, Buzon MJ, Llibre JM, Puertas MC, Gatell JM, *et al.* **Dynamics of CD8 T-cell activation after discontinuation of HIV treatment intensification.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; **63**:152–160.
7. Chomont N, El-Far M, Ancuta P, Trautmann L, Procopio FA, Yassine-Diab B, *et al.* **HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation.** *Nat Med* 2009; **15**:893–900.
8. Hatano H, Jain V, Hunt PW, Lee TH, Sinclair E, Do TD, *et al.* **Cell-based measures of viral persistence are associated with immune activation and programmed cell death protein 1 (PD-1)-expressing CD4+ T cells.** *J Infect Dis* 2013; **208**:50–56.
9. Poizot-Martin I, Faucher O, Oby-Roguet V, Nicolino-Brunet C, Ronot-Bregigeton S, Dignat-George F, Tamalet C. **Lack of correlation between the size of HIV proviral DNA reservoir and the level of immune activation in HIV-infected patients with a sustained undetectable HIV viral load for 10 years.** *J Clin Virol* 2013; **57**:351–355.
10. Avettand-Fenoel V, Boufassa F, Galimand J, Meyer L, Rouzioux C. **HIV-1 DNA for the measurement of the HIV reservoir is predictive of disease progression in seroconverters whatever the mode of result expression is.** *J Clin Virol* 2008; **42**:399–404.
11. Rouzioux C, Hubert JB, Burgard M, Deveaux C, Goujard C, Bary M, *et al.* **Early levels of HIV-1 DNA in peripheral blood mononuclear cells are predictive of disease progression independently of HIV-1 RNA levels and CD4+ T cell counts.** *J Infect Dis* 2005; **192**:46–55.
12. Petitjean G, Chevalier MF, Tibaoui F, Didier C, Manea ME, Liovat AS, *et al.* **Level of double negative T cells, which produce TGF-beta and IL-10, predicts CD8 T-cell activation in primary HIV-1 infection.** *AIDS* 2012; **26**:139–148.
13. Chevalier MF, Petitjean G, Duniach-Remy C, Didier C, Girard PM, Manea ME, *et al.* **The Th17/Treg ratio, IL-1RA and sCD14 levels in primary HIV infection predict the T-cell activation set point in the absence of systemic microbial translocation.** *PLoS Pathog* 2013; **9**:e1003453.
14. Weiss L, Piketty C, Assoumou L, Didier C, Caccavelli L, Donkova-Petrini V, *et al.* **Relationship between regulatory T cells and immune activation in human immunodeficiency virus-infected patients interrupting antiretroviral therapy.** *PLoS One* 2010; **5**:e11659.
15. Piketty C, Weiss L, Assoumou L, Burgard M, Melard A, Ragnaud JM, *et al.* **A high HIV DNA level in PBMCs at antiretroviral treatment interruption predicts a shorter time to treatment resumption, independently of the CD4 nadir.** *J Med Virol* 2010; **82**:1819–1828.
16. Giorgi JV, Hultin LE, McKeating JA, Johnson TD, Owens B, Jacobson LP, *et al.* **Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage.** *J Infect Dis* 1999; **179**:859–870.
17. Deeks SG, Kitchen CM, Liu L, Guo H, Gascon R, Narvaez AB, *et al.* **Immune activation set point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load.** *Blood* 2004; **104**:942–947.
18. Chun TW, Murray D, Justement JS, Hallahan CW, Moir S, Kovacs C, Fauci AS. **Relationship between residual plasma viremia and the size of HIV proviral DNA reservoirs in infected individuals receiving effective antiretroviral therapy.** *J Infect Dis* 2011; **204**:135–138.
19. Anthony KB, Yoder C, Metcalf JA, DerSimonian R, Orenstein JM, Stevens RA, *et al.* **Incomplete CD4 T cell recovery in HIV-1 infection after 12 months of highly active antiretroviral therapy is associated with ongoing increased CD4 T cell activation and turnover.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; **33**:125–133.
20. Klatt NR, Chomont N, Douek DC, Deeks SG. **Immune activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection.** *Immunol Rev* 2013; **254**:326–342.
21. Douek DC. **Immune activation, HIV persistence, and the cure.** *Top Antivir Med* 2013; **21**:128–132.

DOI:10.1097/QAD.0000000000000319

Impact of HLA-B*35 subtype differences on HIV disease outcome in Mexico

Claudia I. Juarez-Molina^{a,*}, Humberto Valenzuela-Ponce^{b,*}, Santiago Avila-Rios^b, Daniela Garrido-Rodriguez^b, Thalía Garcia-Tellez^b, Maribel Soto-Nava^b, Claudia Garcia-Morales^b, Philip Goulder^a and Gustavo Reyes-Teran^b

HLA-B*35 has consistently been associated with rapid HIV disease progression, particularly alleles of the Px group. As B*35 is the most prevalent HLA-B in Mexico, we investigated HIV disease outcome in relation to HLA expression in a large cohort (n=976) of Mexicans. Contrary to the previous studies, no impact on viral load or CD4+ cell count was observed in association with the B*35 PY/Px groups. However, we observed differences in HIV disease outcome associated with specific HLA-B*35 alleles.

Several lines of evidence point to the central role of human leukocyte antigen (HLA) molecules and CD8⁺ T-cell responses in immune control of HIV [1]. These include the following: the temporal association between the emergence of HIV-specific CD8⁺ T-cell responses and reduction in acute viraemia [2,3]; anti-CD8⁺ monoclonal antibodies prevent the early decline in plasma viral load (pVL) in macaque/simian immunodeficiency virus (SIV) model studies [4]; viral escape from the dominant CD8⁺ T-cell response resulting in loss of immune control [5,6]; disadvantage of HLA class I homozygosity [7]; association of specific HLA class I alleles with slow or rapid disease progression [7–9]; that HLA-B alleles make the greatest contribution to the HIV-specific CD8⁺ T-cell response, imposing the strongest selection pressure on HIV [8]; and, that the major genetic variation associated with pVL set-point and/or rate of disease progression is within the major histocompatibility complex, as shown by genome-wide association studies in Caucasians [10].

Nevertheless, the mechanisms involved in HLA-mediated control or susceptibility to HIV infection are not well understood. Previous studies have consistently associated HLA-B*35 with rapid disease progression in the context of HIV-1 B clade infection [7,9,11,12]. Historically, HLA-B*35 alleles have been classified into two groups based on the amino acid preference at position 9 (P9) of the peptides they present. The PY group binds mainly tyrosine (Y) at P9, whereas the Px group has a preference for smaller hydrophobic residues such as leucine, methionine or valine, and does not bind tyrosine at P9 [13]. Both groups bind proline at P2. HLA-B*35:02/35:03, which is part of the Px group, has been associated with an especially poor HIV disease outcome [9,14]. The possible mechanisms for this association remain unknown, but have been related to differential leucocyte immunoglobulin receptor B2 binding [19]. In

addition, it has been suggested that the greater ability of HLA-B*35:01 (PY) to present Gag peptides compared to HLA-B*35:02/35:03 is a key difference affecting HIV disease outcome [14,18].

To further elucidate these observations, we studied the impact on HIV disease outcome of a range of HLA-B*35 alleles in a cohort of 976 chronically HIV-1 B clade-infected antiretroviral therapy-naïve Mexican individuals.

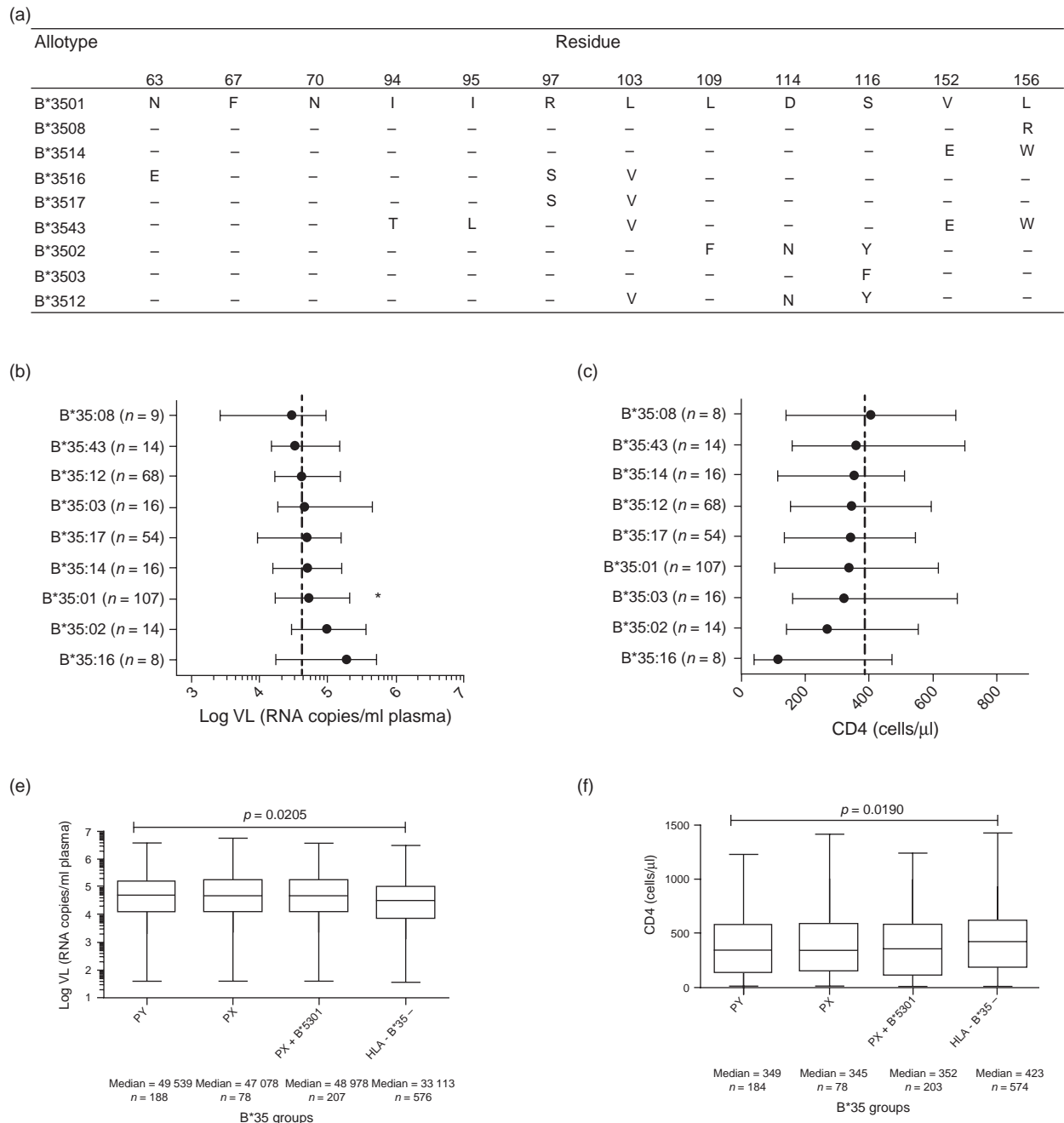


Fig. 1. Impact of HLA-B*35 PY and Px alleles on HIV control in a Mexican cohort. (a) Site variation of HLA-B*35 subtypes along the peptide binding groove. Sites with variation among subtypes and sites that are known to affect peptide binding are shown. PY group alleles are shaded, Px group alleles are not shaded. (b) Association of HLA-B*35 subtypes with more than 1% population frequency with viral load. (c) CD4⁺ T-cell count in a cohort of 976 chronically B-clade HIV-infected individuals. Associations with a *P* value less than 0.05 (as measured by the two-tailed Mann–Whitney *U* test) and a *q* value less than 0.2 are indicated by an asterisk (*). Central points represent medians and lines 25th to 75th percentiles. (d) Association of individuals heterozygous for HLA-B*35 PY or Px alleles with viral load. (e) CD4⁺ T-cell count (*P* values generated by two-tail Mann–Whitney *U*-test). Central lines represent medians, boxes 25th to 75th percentiles, and lines minimum and maximum values for viral load or CD4⁺ T-cell counts.

HLA-B*35 is the most prevalent HLA-B allele in Mexico, expressed in approximately one-third of Mexicans [15], including a number of relatively unstudied HLA-B*35 subtypes, making Mexico an ideal population for this study.

We observed nine HLA-B*35 alleles with the frequency of at least 1% in our cohort. On the basis of the residues found in the HLA peptide binding groove at positions 114 and 116 [16], B*35:01, B*35:08, B*35:14, B*35:16, B*35:17 and B*35:43 were classified as belonging to the PY group, and B*35:02, B*35:03 and B*35:12 to the Px group (Fig 1a).

We ranked HLA-B alleles with frequency equal to or greater than 1% based on the median pVL and CD4⁺ T-cell counts. As expected, B*57:01 and B*27:05 were associated with lower pVL and higher CD4⁺ T-cell counts (data not shown), consistent with the previous studies in HIV-1 clade B-infected Caucasian cohorts [17]. Diverse ranking of HLA-B*35 alleles according to the median pVL set-points and CD4⁺ T-cell counts was observed (Fig. 1b and c). HLA-B*35:01, historically not a disease-susceptible allele [13], was associated with higher pVL ($P=0.02$, $q=0.06$; Fig. 1b), but was not significantly associated with low CD4⁺ T-cell count (Fig. 1c). HLA-B*35:08, which is also a PY member, had a modest protective effect on disease outcome, although this was not statistically significant. This result challenges the B*35-PY/Px hypothesis, indicating that PY alleles can be disease-susceptible, and also that differences exist in disease associations within a PY/Px grouping.

In contrast with earlier work, no significant impact on median pVL ($P=0.99$) or absolute CD4⁺ T-cell count ($P=0.53$) was observed between the HLA-B*35 PY and the Px groups (Fig. 1d, e). The groups were analysed including and excluding HLA-B*53:01, which is closely related to HLA-B*35:01, differing only at the Bw4/Bw6 motif, and has previously been included within the Px group. Only HLA-B heterozygous individuals were included in the analysis shown, in order to exclude confounding effects resulting from HLA homozygosity [7]. However, no change was observed when homozygotes were included (data not shown). Thus, the previous observation that the negative effect of the B*35 group is due to the Px alleles is not supported by these data.

HLA-B*35:01, a PY allele historically described as not being disease-associated [13], showed a significant negative effect on pVL in the present study. This finding is consistent with other more recent studies of HLA-B*35:01 in HIV-1 B-clade infection [17,18]. Furthermore, HLA-B*35:16, another member of the PY group, was the worst of all the B*35 subtypes and was associated (albeit not significantly) with the highest median viral load out of all the 46 HLA-B alleles expressed in this

cohort. Therefore, we conclude that the detrimental effect of HLA-B*35 is unlikely to be related exclusively to PY/Px grouping. Other factors, such as the fine specificity of the HIV peptides presented by different B*35 alleles, may play a role, affecting the nature of the cytotoxic T leukocyte response or perhaps affecting other aspects of the immune response via differential binding to receptors on other immune cells such as LILR-B2 on dendritic cells [19]. Also, selection and fixation of HLA escape mutations at the population level driven by high HLA frequency and low costs in viral replicative capacity could explain the detrimental effects for specific HLA alleles in specific populations [18].

HLA-B*35:01 differs from HLA-B*35:08 by only one amino acid at position 156 (Fig. 1a), buried within the antigen-binding cleft. Previous studies of closely related HLA-B allele pairs HLA-B*57:02/03 and HLA-B*44:02/03 [20–22] have shown that the single amino acid change at position 156 can impact on the dynamics of the HLA-peptide interaction and can therefore alter disease outcome. Changes at position 156 have been shown to affect both the heavy chain and peptide conformation through alterations in the hydrophobic and electrostatic properties of the antigen binding cleft [20].

In conclusion, we observed substantial differences in markers of HIV disease outcome associated with small differences between HLA-B*35 alleles. Defining the mechanisms underlying these differences will facilitate a better understanding of the mechanisms of HIV immune control.

Acknowledgements

G.R.T., P.G. and S.A.R. conceived and directed the study. C.J.M. and H.V.P. performed the analyses. C.J.M. wrote the manuscript. H.V.P., D.G.R. and T.G.T. performed the HLA typing. M.S.N. and C.G.M. processed blood samples and extracted nucleic acids. P.G., G.R.T., S.A.R., C.J.M. and H.V.P. critically revised the manuscript.

The work was supported by the Wellcome Trust (P.G.), the Mexican Government (Comisión de Equidad y Género de la H. Cámara de Diputados), Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (PIRIVE09-18) and Fundación Mexico Vivo.

H.V.P. received a scholarship from the National Council of Science and Technology (CONACyT) and the National Autonomous University of Mexico (UNAM). This study constitutes partial fulfilment of the UNAM PhD in Biomedical Sciences requisites for H.V.P.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

^aDepartment of Paediatrics, University of Oxford, Oxford, UK, and ^bCentre for Research in Infectious Diseases, National Institute of Respiratory Diseases, Mexico City, Mexico.

Correspondence to Gustavo Reyes-Teran, National Institute of Respiratory Diseases, Calzada de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, 14080 Mexico City, Mexico. E-mail: gustavo.reyesteran@gmail.com

*Claudia I. Juarez-Molina and Humberto Valenzuela-Ponce contributed equally to the writing of this article.

Received: 15 April 2014; revised: 25 April 2014; accepted: 28 April 2014.

References

- Goulder PJR, Watkins DI. **Impact of MHC class I diversity on immune control of immunodeficiency virus replication.** *Nat Rev Immunol* 2008; **8**:619–630.
- Borrow P, Lewicki H, Hahn BH, Shaw GM, Oldstone MB. **Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection.** *J Virol* 1994; **68**:6103–6110.
- Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, et al. **Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome.** *J Virol* 1994; **68**:4650–4655.
- Schmitz J, Kuroda M, Santra S, Sasseville V. **Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ T lymphocytes.** *Science* 1999; **283**:857–860.
- Goulder PJR, Phillips R E, Colbert R A, McAdam S, Ogg G, Nowak M A, et al. **late escape from an immunodominant cytotoxic T lymphocyte response associated with progression to AIDS.** *Nat Med* 1997; **3**:212–217.
- Feeney M, Tang Y, Roosevelt K, Leslie A, McIntosh K, Karthas N, et al. **Immune escape precedes breakthrough human immunodeficiency virus type 1 viremia and broadening of the cytotoxic T-lymphocyte response in an HLA-B27-positive long-term-non-progressing child.** *J Virol* 2004; **78**:8927–8930.
- Carrington M. **HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage.** *Science* 1999; **283**:1748–1752.
- Kiepiela P, Leslie AJ, Honeyborne I, Ramduth D, Thobakgale C, Chetty S, et al. **Dominant influence of HLA-B in mediating the potential co-evolution of HIV and HLA.** *Nature* 2004; **432**:769–775.
- O'Brien SJ, Gao X, Carrington M. **HLA and AIDS: a cautionary tale.** *Trends Mol Med* 2001; **7**:379–381.
- Fellay JK, Shianna V, Ge D, Colombo S, Ledergerber B, Weale M, et al. **A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1.** *Science* 2007; **317**:944–947.
- Carrington M, O'Brien SJ. **The influence of HLA genotype on AIDS.** *Annu Rev Med* 2003; **54**:535–551.
- Geldmacher C, Metzler IS, Tovanabuttra S, Asher TE, Gostick E, Ambrozak DR, et al. **Minor viral and host genetic polymorphisms can dramatically impact the biologic outcome of an epitope-specific CD8 T-cell response.** *Blood* 2009; **114**: 1553–1562.
- Gao X, Nelson GW, Karacki P, Martin MP, Phair J, Kaslow R, et al. **Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS.** *N Engl J Med* 2001; **344**:1668–1675.
- Jin X, Gao X, Ramanathan M Jr, Deschenes GR, Nelson GW, O'Brien SJ, et al. **Human Immunodeficiency Virus Type 1 specific CD8+ T cell responses for groups of HIV 1 infected individuals with different HLA B 35 genotypes.** *J Virol* 2002; **76**:12603–12610.
- Barquera R, Zúñiga J, Hernández-Díaz R, Acuña-Alonzo V, Montoya-Gama K, Moscovo J, et al. **HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico.** *Mol Immunol* 2008; **45**:1171–1178.

- Marsh SGE, Parham P, Barber LD. **The HLA facts book.** London: Academic Press; 2000.
- Goulder PJR, Walker BD. **HIV and HLA class I: an evolving relationship.** *Immunity* 2012; **37**:426–440.
- Matthews PC, Koyanagi M, Kloverpris HN, Harndahl M, Stryhn A, Akahoshi T, et al. **Differential clade-specific HLA-B*3501 association with HIV-1 disease outcome is linked to immunogenicity of a single Gag epitope.** *J Virol* 2012; **86**:12643–12654.
- Bashirova AA, Martin-Gayo E, Jones DC, Qi Y, Apps R, Gao X, et al. **LILRB2 interaction with HLA class I correlates with control of HIV-1 infection.** *PLoS Genet* 2014; **10**:e1004196.
- Archbold JK, Macdonald WA, Gras S, Ely LK, Miles JJ, Bell MJ, et al. **Natural micropolymorphism in human leukocyte antigens provides a basis for genetic control of antigen recognition.** *J Exp Med* 2009; **206**:209–219.
- Burrows JM, Wynn KK, Tynan FE, Archbold J, Miles JJ, Bell MJ, et al. **The impact of HLA-B micropolymorphism outside primary peptide anchor pockets on the CTL response to CMV.** *Eur J Immunol* 2007; **37**:946–953.
- Kloverpris HN, Stryhn A, Harndahl M, van der Stok M, Payne RP, Matthews PC, et al. **HLA-B*57 micropolymorphism shapes HLA allele-specific epitope immunogenicity, selection pressure and HIV immune control.** *J Virol* 2012; **86**:919–929.

DOI:10.1097/QAD.0000000000000322

CD8⁺/CD161⁺⁺ mucosal-associated invariant T-cell levels in the colon are restored on long-term antiretroviral therapy and correlate with CD8⁺ T-cell immune activation

Louise Greathead^a, Rebecca Metcalf^a, Brian Gazzard^b, Frances Gotch^a, Alan Steel^c and Peter Kelleher^{a,b}

Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are tissue-homing T cells recently implicated in HIV pathogenesis. We found that the proportion of MAIT cell in blood and colon of HIV+ patients are reduced in untreated infection. Antiretroviral therapy restored colonic but not blood MAIT cell percentages. We observed a negative correlation between colonic MAIT cells and T-cell activation in blood and suggest mucosal MAIT cell depletion may contribute to systemic immune activation in HIV infection.

Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are a recently described innate-like mucosal-homing T cell subset which express the semi-invariant T cell receptor V α 7.2, interleukin-18R and are strongly positive for CD161 [1]. MAIT cells play a key role in host immunity against bacteria and fungi by recognition of vitamin B metabolites presented by the MHC class 1b-related protein MR1 [2]. Two recent studies have shown that antiretroviral therapy (ART) fails to restore MAIT cell percentages in the blood [3,4]. Damage to the mucosal epithelium resulting in microbial translocation has been proposed as a mechanism for the immune activation seen in HIV+ patients [5]. We hypothesized that depletion of MAIT cells in the colon of HIV+ patients would correlate with increased immune activation and markers of microbial translocation.