

## Encontrando las huellas de la selección en el VIH

Enrique Espinosa\*

**RESUMEN.** Evidencias recientes establecen que la evolución del virus de la inmunodeficiencia humana en la presente epidemia tiene un componente adaptativo. La principal presión selectiva sobre este virus consiste en el reconocimiento por linfocitos T citotóxicos (CTLs), de péptidos virales en células infectadas, asociados a moléculas HLA de clase I. Dado que cada alelo HLA reconoce un repertorio definido de péptidos, las mutaciones de escape reflejarán los alelos presentes individual o poblacionalmente. Estudios iniciales establecieron la posibilidad de la evolución adaptativa en el VIH, mostrando el papel de los CTLs en el control de la infección, la aparición de mutantes de escape y su capacidad de ser transmitidas y acumularse. Posteriormente, el hallazgo de una asociación en un nivel poblacional entre los polimorfismos en la secuencia del virus y ciertos alelos HLA se consideró una huella de la selección por CTLs, cuyos mecanismos inmunológicos y su acción actual han sido también descritos. El evaluar hipótesis inmunológicas sugeridas por la estadística de polimorfismos virales y humanos ofrece nuevas oportunidades de investigación sobre la interacción entre los tratamientos antirretrovirales y la respuesta inmune, el papel de otras presiones selectivas y la importancia biológica de la aptitud replicativa de las variantes virales.

**Palabras clave:** VIH, SIDA, evolución, selección natural, terapia antirretroviral, respuesta celular.

**ABSTRACT.** Recent evidences establish that the evolution of the Human Immunodeficiency Virus in the present epidemic has an adaptive component. The main selective pressure on HIV consists of cytotoxic T lymphocytes (CTLs) recognition of viral peptides on infected cells associated to class I HLA molecules. Since each HLA allele recognizes a defined repertoire of peptides, escape mutations will reflect the HLA alleles present in individuals or populations. Initial findings demonstrated the possibility of adaptive evolution in HIV, by showing the role of CTLs in infection control, the emergence of escape mutants, and their ability to be transmitted and accumulate. The subsequent finding of a population-level association between viral sequence polymorphisms and particular alleles in the hosts was considered a mark of CTL selection on HIV. Subsequent studies experimentally verified the immunological mechanisms of this selection and it is present occurrence. The strategies of these studies, based on the evaluation of immunological hypothesis suggested by statistical findings on virus and host polymorphisms, offer novel opportunities of research in topics as the interaction between immune and antiretroviral drug pressures, and the biological relevance of fitness of viral variants.

**Key words:** HIV, AIDS, evolution, natural selection, antiretroviral therapy, cellular response.

Es indudable que el virus de la inmunodeficiencia humana se ha diversificado y que está evolucionando. En dicha evolución tiene un papel determinante la interacción del virus con la respuesta inmune de sus hospederos humanos, la cual constituye la principal presión selectiva natural. Resulta interesante la forma en que se han integrado las evidencias de esta selección inmune en la evolución del VIH, pues plantean posibles escenarios a largo plazo de la evolución del virus en la presente epidemia. En este trabajo se describen dichas evidencias y se resaltan sus implicaciones potenciales en la profilaxis y el tratamiento de la infección por VIH, así como su importancia en la comprensión de la interacción de la respuesta inmune contra el virus y en la eficacia de los tratamientos antirretrovirales.

### *Gran diversidad del genoma del VIH*

El VIH es un lentivirus de la familia *Retroviridae*. Además de los genes típicos de los retrovirus, pol, gag y env, el VIH posee otros elementos en su genoma, como los genes vif, tat, rev y nef, (vpu, vpr) que codifican para proteínas importantes en el ciclo de replicación, en la interacción con la célula y en su interacción con la respuesta inmune. Mientras gag codifica para proteínas de la cápside y pol codifica para las importantes enzimas transcriptasa inversa, proteasa e integrasa, env codifica para proteínas asociadas a la envoltura, con gran inmunogenicidad. Pero no sólo Env es inmunogénica, los productos de todo el genoma viral lo son y por lo tanto todo éste se encuentra potencialmente bajo presión selectiva de la respuesta inmune.

Este genoma es altamente variable<sup>1</sup> debido a dos características del virus. Una es la baja fidelidad de la transcriptasa inversa (DNA polimerasa viral dependiente del ARN genómico del virus), que da lugar a una alta tasa de mutación, reportada en el orden de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  sustituciones por

\* Centro de Investigaciones en Enfermedades Infecciosas (CIENI), Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México, D.F.

año<sup>2</sup> o de  $3.4 \times 10^{-5}$  errores por base por ciclo de replicación.<sup>3</sup> La otra es la recombinación, debida a “saltos” de la transcriptasa inversa de una a otra de las dos cadenas de ARN genómico viral durante la síntesis de DNA dependiente de ARN (retrotranscripción).<sup>4</sup> Son comunes los aislamientos de virus recombinantes de pacientes,<sup>5</sup> los cuales podrían ser el producto de recombinaciones *in vivo* durante infecciones duales (de virus provenientes de infecciones independientes).<sup>6</sup> De hecho, se han hallado recombinantes en casos de infección dual *in vivo*<sup>7</sup> y de superinfección.<sup>8</sup> Estos mecanismos se traducen en una gran variabilidad del virus en su hospedero.

El VIH es capaz de soportar este gran número de variaciones genómicas sin perder viabilidad. Esto se refleja en la aparición de un gran número de variantes virales divergentes en cada sujeto infectado<sup>9</sup> conforme avanza la infección.<sup>10</sup> Esta diversificación ocurre también en transmisiones sucesivas, como se ha observado en cadenas documentadas de transmisión horizontal.<sup>11</sup> Más aún, el virus se ha diversificado con el tiempo durante esta epidemia<sup>12,13</sup> y las recombinantes se han encontrado en poblaciones grandes.<sup>14,15</sup>

#### *Requisitos de la evolución por selección*

Surge entonces la pregunta de si esta diversificación refleja cambios adaptativos, es decir, que la variación incluya la fijación de variantes debido a la presión ejercida por su medio actual: el ser humano. La pregunta de si los virus de ARN como el VIH están simplemente cambiando (evolución neutral) o se están adaptando durante su diversificación es de la mayor importancia.<sup>16</sup> Para poder decir que lo segundo ha ocurrido, se requiere de una serie de evidencias empíricas. En primera instancia, en el individuo infectado, debe encontrarse la aparición de mutantes viables, algunas de las cuales deberían representar alguna ventaja en el medio, como por ejemplo conferir escape a la respuesta inmune. Esta ventaja debería traducirse en una acumulación de mutantes. De especial importancia en este contexto es la transmisión. Dichas mutantes deberían poder ser transmitidas y acumularse en el nuevo hospedero. El que eso ocurriera en la población humana se debería entonces reflejar en una correlación entre la presencia de la presión selectiva (posiblemente inmune) con la presencia de las variantes seleccionadas. Cada uno de estos requisitos ha sido cubierto por trabajos experimentales que se describen a continuación.

La infección por VIH es seguida por una respuesta del sujeto que comprende los diferentes brazos de la inmunidad: respuestas innatas, respuesta específica de anticuerpos y respuestas celulares específicas (mediadas por el receptor de células T). De los distintos brazos de la respuesta inmune frente al VIH, se considera que la respuesta de lin-

focitos T CD8+ citotóxicos (CTLs) es la principal línea de defensa, pues se ha encontrado que son importantes en el control de la viremia en distintas fases de la infección,<sup>17</sup> particularmente en los casos en que ésta se controla efectivamente o avanza en un periodo largo.<sup>18</sup> Así, es de esperarse que variantes del virus capaces de evadir la acción de los CTLs presenten una gran ventaja en un medio dominado por esta respuesta.

Los CTLs son células CD8+ que con su receptor de células T reconocen péptidos derivados del virus asociados a moléculas HLA de clase I en células infectadas. Esta unión conduce a la lisis de la célula infectada (célula blanco), con lo que se detiene la replicación del virus. La especificidad de esta respuesta permite su evasión por variantes del péptido reconocido, llamadas así mutantes de escape. Las mutantes de escape a CTLs pueden ser viables y acumularse en individuos infectados después de la fase aguda de la infección.<sup>19-21</sup>

Más aún, los genes HLA clase I en el humano son altamente polimórficos<sup>22,23</sup> y cada alelo de HLA tiene un repertorio definido de péptidos del virus que puede presentar a los CTLs (restricción HLA), pues los péptidos blanco tienen diferentes afinidades a estos alelos. La existencia de unos 429 alelos del antígeno A, 751 del B (el más polimórfico) y 219 del C; además de los E, F y G, menos variables, (ver <http://www.embl-ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>) determina repertorios diferentes de péptidos reconocibles en cada individuo y así, una gran diversidad en el medio selectivo al que se enfrenta el VIH. La correspondencia entre polimorfismos HLA y presión por CTLs permitiría rastrear el destino de algunas mutantes de escape, al conocerse los epítomos de VIH, los alelos de restricción correspondientes y, así, qué mutantes de escape se podrían esperar para cada alelo HLA. Así, es de esperarse que la frecuencia de algunas mutaciones de escape en aislamientos de VIH correlacionen con la presencia de los alelos HLA que los seleccionan en individuos o poblaciones.

#### *Posibilidad de la evolución por selección en el VIH*

Este rastreo de mutantes de escape en asociación con alelos HLA permitió establecer que la evolución por selección inmune es factible. Conociendo el alelo de una cohorte de sujetos infectados y su determinante antigénico de restricción, Goulder y colaboradores pudieron hacer por primera vez un seguimiento de la acumulación de las mutantes de escape correspondientes a dichos alelos.<sup>24</sup> Encontraron así que los sujetos que presentan el alelo HLA B27 acumulan mutantes características, que son de escape en dichos individuos. La transmisión y acumulación posterior de las mutantes de escape, requisito crucial de la evolución por selección fue verificada en parejas de trans-

misión *bona fide* madre-hijo, corroborada con filogenia. Observaron así que las mutantes de escape seleccionadas por el alelo HLA B27 y acumuladas en las madres se transmitían a sus hijos, quienes las presentaban con mayor frecuencia que si se hubieran seleccionado después de la transmisión. Los hijos B27+ de madres B27-, que no recibían la mutante, tardaban más en presentarla.<sup>24</sup>

Una evidencia importante de la acción de los alelos HLA como presión selectiva es que algunas mutantes de escape al ser transmitidas reversiones cuando los alelos selectores están ausentes en el receptor. Esto fue verificado en otro estudio de parejas de transmisión, en el que además de aportar el *footprinting* como evidencia del origen de las mutantes transmitidas, encontraron que los individuos que no presentaban el alelo selector (en este caso el B57 o B5801) perdían la mutante de escape.<sup>25</sup> En este estudio, el origen de las reversiones como progenie de las mutantes adquiridas del transmisor fue verificado por la presencia de mutaciones que aparecieron inicialmente en el transmisor asociadas a las de escape.<sup>25</sup>

Un aspecto adicional fundamental en el destino de las mutantes de escape en las poblaciones es su costo en la aptitud replicativa del virus.<sup>26</sup> En un modelo en simios, utilizando un inóculo monoclonal del virus de la inmunodeficiencia simiana (SIV), el cual contenía mutaciones de escape a alelos restrictivos conocidos MHC y con efectos conocidos en la aptitud replicativa, se rastreó inequívocamente su destino en animales con o sin dicho los alelos. Como se esperaba, las mutantes con costo en aptitud replicativa tendían a revertirse en ausencia del alelo selector.<sup>27</sup> Es de esperarse entonces que una mutante de alto costo tendiera a fijarse menos después de transmitida.

#### *Huellas de la evolución por selección en la presente epidemia*

Cumplidos los requisitos para una evolución adaptativa del VIH (donde la presión selectiva es ejercida principalmente por la presencia de moléculas HLA a través de la respuesta de CTLs) se pueden plantear diferentes escenarios después de la transmisión de las mutantes de escape entre individuos. La acumulación o reversión de estas mutantes dependerá de la presencia de la presión selectiva y del costo de dicha mutación en la aptitud replicativa del virus. Tanto para las mutantes con alto costo como para las de costo menor, la presencia del alelo selector las hará permanecer en el individuo receptor. La ausencia de dicho alelo hará que las mutantes con alto costo reversionen, mientras que las de menor costo podrán fijarse, acumulándose en la población mientras la epidemia avanza.

La acumulación tendría que traducirse en una frecuencia importante de la mutante en la población y esta fre-

cuencia tendría que estar asociada a la presencia del alelo HLA selector. Esto fue observado claramente en un estudio en el que se buscaron variaciones de la secuencia consenso en el gen *pol* del VIH en aislamientos de 400 individuos infectados cuyos alelos HLA se conocían.<sup>28</sup> Los resultados mostraron asociaciones estadísticamente significativas entre la frecuencia de polimorfismos en el virus y la presencia de alelos HLA específicos en los individuos. Muchas de estas correlaciones estaban justamente en sitios de la secuencia de *pol* donde ya se habían descrito epítomos restringidos por los alelos HLA asociados estadísticamente. Este hallazgo revela así una huella en la población de los mecanismos selectivos arriba descritos.

En el estudio anterior se encontró también que la frecuencia de polimorfismos de VIH en la cohorte en general era mayor de la que se esperaba al azar, lo que apoya que dichas variantes tienden a conservarse una vez transmitidas (selección interpaciente)<sup>28</sup> y la correlación no se podía deber sólo a la selección ocurrida en cada uno de los individuos (selección intrapaciente). Una confirmación importante de la selección interpaciente provino del estudio de una variante seleccionada por el alelo A\*0201, en el que además de verificarse la asociación en un nivel poblacional y la tendencia a acumularse en la población en general, se analizó la frecuencia de sustituciones sinónimas y no sinónimas en su secuencia codificadora, encontrándose que, si bien la presión selectiva estaba presente sólo en los individuos con el alelo, había indicadores de selección positiva ( $dN/dS > 1$ ) en la fracción de la población incapaz de generar una respuesta sobre el epítomo, lo que demostró la transmisión sostenida de estas mutaciones inicialmente seleccionadas en individuos.<sup>29</sup>

Estos hallazgos estadísticos cuentan con evidencias experimentales inmunológicas. La estrategia inmunológica permitió describir que el antígeno HLA-B (a diferencia de los antígenos A y C) es el más asociado a un buen control de la infección y también es el que ejerce la mayor presión selectiva sobre el genoma viral; revelado esto último por una mayor asociación del alelo con la presencia de respuestas específicas a péptidos del VIH y con una mayor variación en la secuencia de aminoácidos de dichos péptidos.<sup>30</sup>

Un hallazgo inesperado sugirió fuertemente que la evolución por selección se está llevando a cabo en la presente epidemia. Se ha descrito que algunos alelos HLA se asocian con la ausencia de polimorfismos en algunos sitios del genoma del VIH (es decir, con la conservación de la secuencia consenso).<sup>28</sup> Esta asociación "negativa" de algunos alelos HLA con polimorfismos puede ser el resultado de la extinción previa de epítomos bajo la presión selectiva de la respuesta de CTLs. Esto implicaría que algunas posiciones en la secuencia consenso actual correspondieran a mutantes de escape que predominaron hasta constituir ahora la secuencia más común. Esto ha sido demostrado, estudiando posi-

ciones con asociación “negativa” a los alelos B57, B5801.<sup>31</sup> Este estudio, siguiendo los pasos de estudios anteriores, demostró primero una asociación poblacional entre la expresión de B57/5801 y la conservación de la secuencia consenso. Luego que las secuencias variantes tienden a perderse en individuos B57/5801 + conforme avanza la infección, predominando la secuencia consenso. Este grupo demostró que dichas secuencias correspondían a péptidos que se comportaban como mutantes de escape frente a de sujetos B57/5801+, que comparados con péptidos variantes. Todo esto apunta a que la correlación entre los alelos HLA estudiados y la conservación de la secuencia consenso es el producto de una selección positiva previa de esta secuencia, debida al reconocimiento de epítomos a una secuencia consenso anterior.

La extinción de epítomos durante la presente epidemia es apoyada por un hallazgo adicional. En el mismo estudio se describió una variante seleccionada por el alelo B\*51 y que se conserva al transmitirse a individuos negativos para B\*51. La variante en cuestión se asocia a la expresión de B\*51 tanto en aislamientos de virus del clado B como del C. En el clado B se trata de una asociación negativa, y se cree que la variante de escape se ha convertido en el consenso, pues el alelo selector es frecuente. En el clado C que infecta poblaciones donde HLA-B\*51 es raro, la variante todavía no se convierte en el consenso y se ve poblacionalmente como una asociación positiva entre el alelo y la desviación del consenso (polimorfismo).<sup>31</sup> Esta verificación inmunológica de datos estadísticos puede considerarse una evidencia de la selección en plena acción en el presente sobre el VIH.

Dado lo reciente de la interacción del VIH con el ser humano, es posible que apenas se estén dando procesos de evolución por selección que se podrían haber dado hace mucho tiempo en otros virus que han coexistido con nuestra especie más tiempo. Esto explicaría los análisis de sustituciones sinónimas y no sinónimas que sugieren una mayor selección en la evolución del VIH, comparada con la de otros retrovirus humanos.<sup>32,33</sup>

#### *Consecuencias de la doble presión selectiva durante el tratamiento antirretroviral: doble ventaja o acorralamiento*

A este escenario se le ha añadido recientemente una fuerza selectiva artificial: la terapia antirretroviral altamente activa, tratamiento de elección en la infección por VIH.<sup>34</sup> Este tratamiento está compuesto de una combinación de inhibidores de la transcriptasa inversa más un inhibidor de la proteasa o de tres inhibidores de la transcriptasa inversa, dos de ellos análogos de nucleósido más uno no análogo.<sup>35</sup> Durante el tratamiento surgen mutantes re-

sistentes a los antirretrovirales (ARV), las cuales predominan sobre las variantes originales.<sup>36</sup> No se puede descartar que esta terapia influya en la evolución del VIH en la población. Así, se cree que el incremento en casos de resistencia primaria (presencia de variantes resistentes en individuos que nunca han recibido antirretrovirales)<sup>37,38</sup> se debe a la transmisión de mutantes de resistencia previamente seleccionadas en individuos en tratamiento.

Los productos del gen pol que son blanco de los fármacos antirretrovirales principales (proteasa y transcriptasa inversa), al igual que los productos del resto del genoma viral, son inmunogénicos. Si un sitio de mutación que confiere escape a CTLs fuese el mismo que confiere resistencia a un antirretroviral sería posible que mutantes de escape a CTLs fuesen al mismo tiempo mutantes de resistencia a ARV. Tales mutantes tendrían *doble ventaja* (frente al fármaco y frente a la respuesta de CTLs), en un individuo bajo terapia antirretroviral que además tuviera el alelo HLA seleccionador de la mutante.

De un modo inverso, es también posible que un individuo, dados sus alelos HLA, sea capaz de montar una respuesta de CTLs a las mutantes de resistencia seleccionadas por el tratamiento antirretroviral. En este individuo bajo tratamiento, dicha mutante estaría desfavorecida por la respuesta de CTLs, mientras que el virus *wild type* estaría desfavorecido por la presencia de los fármacos. Se puede esperar que este sujeto estuviese protegido por un *acorralamiento* del virus por la terapia y la respuesta inmune.

La doble ventaja podría explicar una serie de asociaciones entre alelos HLA en individuos VIH+ y la incidencia de mutaciones de resistencia a antirretrovirales durante el tratamiento.<sup>39</sup> Se ha encontrado que los sujetos con ciertos haplotipos tienen un riesgo significativo de presentar virus con mutantes de resistencia a ciertos fármacos durante el tratamiento, mientras que ciertos alelos están asociados con una incidencia disminuida de dichas mutaciones.<sup>39</sup>

Los casos de asociación positiva podrían deberse a la existencia de sitios de doble ventaja; en los que la presión por favorecería la acumulación de mutantes de escape que también son mutantes de resistencia. Así, la presencia de ambas presiones favorecería la acumulación de las mutantes en los sujetos con el alelo selector y bajo tratamiento (Tabla 1). En consonancia con esta posibilidad, se ha reportado una mutante de resistencia a inhibidores de proteasa que resulta conferir capacidad de escape a CTLs en el sujeto del que se aisló.<sup>40</sup> Es necesario determinar experimentalmente si esto ocurre en los casos de asociación positiva HLA-mutantes de resistencia a ARV reportados.

La hipótesis de la doble ventaja tiene varias implicaciones importantes (Tabla 1). Si todos los sitios en los que hay correlación entre alelos HLA y presencia de mutantes de resistencia a ARV<sup>39</sup> corresponden a mutantes con doble ven-



taja, los alelos serían un factor de riesgo genético para el fracaso virológico en la terapia antirretroviral. La tipificación HLA previa a la terapia antirretroviral podría entonces llegar a usarse para decidir tratamientos personalizados que evitaran condiciones de doble ventaja para el virus.

Adicionalmente, la existencia de mutantes con doble ventaja podría explicar el incremento reciente en los casos de resistencia primaria a antirretrovirales.<sup>38</sup> Esta resistencia podría deberse no sólo a la adquisición de mutantes previamente seleccionadas por el tratamiento en los individuos transmisores, sino también a una selección por las CTLs del individuo receptor de mutaciones que coincidentemente son también de resistencia a antirretrovirales. Si bien la presencia de estos mecanismos como fenómenos generalizados es en este momento especulativa, el conocimiento de los alelos HLA de los individuos y poblaciones podrían servir para hacer predicciones sobre riesgo de resistencia primaria a ARV y orientar estrategias y políticas de tratamiento.

Paralela a la doble ventaja está la interesante posibilidad de acorralar al VIH, mediante distintas presiones (ver arriba). Esto sería posible en individuos que presentan un alelo HLA con afinidad a alguna mutante de resistencia a ARV y así, pudiera montar una respuesta contra dicha mutante. Des este modo, mientras la mutante estaría bajo presión de los ARV, el virus sin mutar estaría bajo la presión del antirretroviral; ninguna de las variantes estaría favorecida en un individuo con el HLA restrictivo y bajo tratamiento y así, estaría acorralado. Una situación así podría subyacer al hecho de que algunos alelos HLA están asociados a una baja incidencia de mutantes de resistencia a ciertos antirretrovirales, hallazgo descrito como "correlación negativa"<sup>39</sup> (Tabla 1).

Para que éste fuese el mecanismo de la correlación negativa, la mutación de resistencia tendría que formar parte de un epítipo restringido por el alelo que se asocia a la baja incidencia de resistencia. Al mismo tiempo se esperaría que el péptido original, susceptible a los ARV, se comportara como una mutante de escape. Concuera con este requisito el hallazgo de una mutante de resistencia a inhibidores de la transcriptasa inversa situado en un epítipo

de CTLs.<sup>41</sup> El péptido no mutado es presentado por células con el alelo HLA A2, mientras que la mutante de resistencia tiene una restricción por el HLA B57.<sup>41</sup> Se esperaría que los individuos con el alelo B57, siendo capaces de montar una respuesta eficaz contra la mutante de resistencia, la presentarían con menor frecuencia durante un tratamiento con inhibidores de la transcriptasa reversa. Si se prueba que este mecanismo de cambio de restricción subyace a las correlaciones negativas HLA-resistencia a ARV, se podría proponer estrategias terapéuticas que lo aprovecharan, en las que, conociendo los alelos HLA de un individuo, se escogiese un tratamiento antirretroviral con el que las mutantes de resistencia pudieran ser controladas por la respuesta de CTLs, con lo que se esperaría un mayor éxito terapéutico.

#### *Otras posibilidades de acorralar al VIH*

La respuesta de CTLs es la defensa más efectiva conocida contra la infección por VIH en el humano y la mayor presión selectiva sobre él, pero no es de ningún modo la única.<sup>42</sup> En un estudio reciente se encontró que alrededor de una cuarta parte de la diversificación genética del VIH durante la infección no podía ser explicada por esta presión.<sup>43</sup> Por lo tanto, una posible estrategia terapéutica o profiláctica basada en un acorralamiento evolutivo del VIH sería más efectiva si se toman en cuenta las restricciones que tiene el VIH en su variabilidad<sup>44-47</sup> y las otras presiones selectivas a las que está sometido. Una presión importante está constituida por los anticuerpos neutralizantes,<sup>48</sup> los cuales aparecen pronto en la infección y, si bien no son efectivos en controlarla, dan lugar a la acumulación de mutantes de escape desde etapas tempranas de la infección. Otra presión cuya importancia se conoce menos está constituida por las respuestas innatas, como las quimiocinas<sup>49</sup> y la actividad no citotóxica de células CD8.<sup>35</sup> En cuanto a las respuestas celulares específicas, estudios recientes sugieren que la respuesta proliferativa de CD4 es de poca importancia como presión selectiva.<sup>50</sup>

**Tabla 1.**

Asociación	Manifestación	Hipótesis	Implicaciones
Positiva	Mayor incidencia de la mutación de resistencia a antirretrovirales en sujetos con el alelo	<i>El péptido wild type</i> es el epítipo restringido por el alelo	Fracaso virológico más probable en tratamiento. Resistencia primaria más probable
Negativa	Mayor conservación de la secuencia original ( <i>wild type</i> ) en sujetos con el alelo	Mutante de doble ventaja La mutante resistente a ARV es un epítipo del alelo. Virus acorralado	Protección contra el fracaso virológico en el tratamiento. Menos resistencia primaria

Posibles escenarios de asociación de un alelo HLA cualquiera con alguna mutación de resistencia a antirretrovirales: positiva y negativa. Posibles mecanismos subyacentes a cada caso e implicaciones propuestas en el destino de un tratamiento en la persona que porta el alelo HLA en cuestión.

Existen diversos sitios en el genoma viral cuya variación está restringida,<sup>44,51-53</sup> por lo que se puede esperar que sus mutantes de escape a la respuesta inmune sean menos viables o tengan efectos importantes en la aptitud replicativa del virus. Entre estos sitios de variabilidad restringida destaca el gen *vif*, el cual es necesario para neutralizar a las proteínas APOBEC, factores celulares que dificultan la replicación viral.<sup>54</sup> El diseño de nuevas vacunas profilácticas o terapéuticas podría usar sitios como éste como blanco. Si adicionalmente se toma en cuenta que los sitios del genoma del VIH bajo presión por nuevos fármacos antirretrovirales<sup>55-58</sup> tienen productos también inmunogénicos, la posibilidad de acorralamiento se amplía enormemente al aprovechar genes diferentes a *pol* (Tabla 2).

Las diferentes estrategias existentes hasta ahora para detener la replicación viral o para prevenir la infección por VIH se han enfrentado a la alta variabilidad del genoma viral, que permite la aparición de mutantes de escape o resistencia que limitan estas estrategias. La participación de la selección natural (respuesta inmune, factores intracelulares) y artificial (fármacos antirretrovirales) en la evolución del VIH determina restricciones en su variabilidad. La confluencia de estas presiones, aunadas a las restricciones intrínsecas en la variabilidad del genoma viral, podría limitar su capacidad de adaptación haciendo más efectivas las estrategias de control. De este modo, se hace necesario un conocimiento de la manera en que evoluciona el VIH en distintas poblaciones humanas, que incluya el papel de la selección, para afrontar los retos terapéuticos y profilácticos que este virus representa.

**Tabla 2.**

Presión o restricción	Blanco
Inhibidores de transcriptasa inversa y proteasa	<i>pol</i> (distintos sitios)
Respuesta de	Todo el genoma (inmunodominancia depende de HLA sujeto)
Respuesta inmune: anticuerpos neutralizantes	Todo el genoma (principalmente <i>env</i> ) <sup>59</sup>
Fármacos: Inhibidores de fusión y entrada	<i>env</i> <sup>55-57</sup>
Fármacos: Inhibidores del ensamblaje	<i>env</i> , <i>gag</i> <sup>58</sup>
Factores celulares: APOBEC	<i>vif</i> <sup>54</sup>
Factores celulares: TRIM5 $\alpha$	<i>gag</i> <sup>60</sup>
Restricciones en variabilidad (sitios conservados)	<i>pol</i> <i>gag</i> (sitio activo de la TR, dominio de unión a CD4, sitios en CA) <sup>44,51-53</sup>

Presiones selectivas sobre el VIH y restricciones estructurales en la variabilidad del genoma, de posible utilidad en una estrategia de acorralamiento (ver el texto). El sitio blanco en el genoma fue determinado por la existencia de un producto que interactúa con el factor o el fármaco indicado o por su conservación.

## RECONOCIMIENTOS

El M. en C Santiago Ávila-Ríos hizo una revisión crítica del manuscrito original.

## REFERENCIAS

1. Hu, D. J. et al. The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention. *JAMA* 275, 210-216 (1996).
2. Mansky, L. M. & Temin, H. M. Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *J. Virol.* 69, 5087-5094 (1995).
3. Rambaut, A., Posada, D., Crandall, K. A. & Holmes, E. C. The causes and consequences of HIV evolution. *Nat. Rev. Genet.* 5, 52-61 (2004).
4. Ruibal, I., Diaz, H. M., de Armas, M. B. & Noa, E. On HIV genetic diversity in Cuba. *AIDS* 17, 2274-2275 (2003).
5. Thomson, M. M. et al. HIV-1 genetic diversity in Galicia Spain: BG intersubtype recombinant viruses circulating among injecting drug users. *AIDS* 15, 509-516 (2001).
6. Vergne, L. et al. Biological and genetic characteristics of HIV infections in Cameroon reveals dual group M and O infections and a correlation between SI-inducing phenotype of the predominant CRF02\_AG variant and disease stage. *Virology* 310, 254-266 (2003).
7. Diaz, R. S., Sabino, E. C., Mayer, A., Mosley, J. W. & Busch, M. P. Dual human immunodeficiency virus type 1 infection and recombination in a dually exposed transfusion recipient. The Transfusion Safety Study Group. *J. Virol.* 69, 3273-3281 (1995).
8. Pernas, M., Casado, C., Fuentes, R., Perez-Elias, M. J. & Lopez-Galindez, C. A dual superinfection and recombination within HIV-1 subtype B 12 years after primo-infection. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 42, 12-18 (2006).
9. Korber, B. et al. HIV-1 intrapatient sequence diversity in the immunogenic V3 region. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 8, 1461-1465 (1992).
10. Bello, G. et al. Co-existence of recent and ancestral nucleotide sequences in viral quasispecies of human immunodeficiency virus type 1 patients. *J Gen Virol* 85, 399-407 (2004).
11. Leitner, T. & Albert, J. The molecular clock of HIV-1 unveiled through analysis of a known transmission history. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 10752-10757 (1999).
12. Bennett, D. HIV [corrected] genetic diversity surveillance in the United States. *J. Infect. Dis.* 192, 4-9 (2005).
13. Robbins, K. E. et al. U.S. Human immunodeficiency virus type 1 epidemic: date of origin, population history, and characterization of early strains. *J Virol* 77, 6359-6366 (2003).
14. Yang, C. et al. Genetic diversity and high proportion of intersubtype recombinants among HIV type 1-infected pregnant women in Kisumu, western Kenya. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20, 565-574 (2004).
15. Gao, F. et al. An isolate of human immunodeficiency virus type 1 originally classified as subtype I represents a complex mosaic comprising three different group M subtypes (A, G, and I). *J. Virol.* 72, 10234-10241 (1998).
16. Sala, M. & Wain-Hobson, S. Are RNA viruses adapting or merely changing? *J. Mol. Evol.* 51, 12-20 (2000).
17. Kalams, S. A. & Walker, B. D. The cytotoxic T-lymphocyte response in HIV-1 infection. *Clin. Lab Med.* 14, 271-299 (1994).
18. Harrer, E. et al. HIV-1-specific cytotoxic T lymphocyte response in healthy, long-term nonprogressing seropositive persons. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10 Suppl 2, S77-S78 (1994).

19. Price, D. A. et al. Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocyte escape variants during primary infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 94, 1890-1895 (1997).
20. Zhang, W. H., Hockley, D. J., Nermut, M. V. & Jones, I. M. Functional consequences of mutations in HIV-1 Gag p55 selected by CTL pressure. *Virology* 203, 101-105 (1994).
21. 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).
22. Middleton, D. et al. Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. *Hum. Immunol.* 61, 1048-1052 (2000).
23. Gorodezky, C., Teran, L. & Escobar-Gutierrez, A. HLA frequencies in a Mexican Mestizo population. *Tissue Antigens* 14, 347-352 (1979).
24. Goulder, P. J. et al. Evolution and transmission of stable CTL escape mutations in HIV infection. *Nature* 412, 334-338 (2001).
25. Leslie, A. J. et al. HIV evolution: CTL escape mutation and reversion after transmission. *Nat Med* 10, 282-289 (2004).
26. Weber, J. et al. Role of Baseline pol Genotype in HIV-1 Fitness Evolution. *J Acquir Immune Defic Syndr* 33, 448-460 (2003).
27. Friedrich, T. C. et al. Reversion of CTL escape-variant immunodeficiency viruses in vivo. *Nat Med* 10, 275-281 (2004).
28. Moore, C. B. et al. Evidence of HIV-1 adaptation to HLA-restricted immune responses at a population level. *Science* 296, 1439-1443 (2002).
29. Edwards, C. T., Pfafferott, K. J., Goulder, P. J., Phillips, R. E. & Holmes, E. C. Inpatient escape in the A\*0201-restricted epitope SLYNTVATL drives evolution of human immunodeficiency virus type 1 at the population level. *J. Virol.* 79, 9363-9366 (2005).
30. Kiepiela, P. et al. Dominant influence of HLA-B in mediating the potential co-evolution of HIV and HLA. *Nature* 432, 769-775 (2004).
31. Leslie, A. et al. Transmission and accumulation of CTL escape variants drive negative associations between HIV polymorphisms and HLA. *J. Exp. Med.* 201, 891-902 (2005).
32. Yang, W., Bielawski, J. P. & Yang, Z. Widespread adaptive evolution in the human immunodeficiency virus type 1 genome. *J. Mol. Evol.* 57, 212-221 (2003).
33. Lemey, P., Van, D. S. & Vandamme, A. M. Evolutionary dynamics of human retroviruses investigated through full-genome scanning. *Mol. Biol. Evol.* 22, 942-951 (2005).
34. Lederman, M. M. Immune restoration and CD4+ T-cell function with antiretroviral therapies. *AIDS* 15 Suppl 2, S11-S15 (2001).
35. Torres, K. J. et al. CD8+ cell noncytotoxic anti-HIV response: restoration by HAART in the late stage of infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 22, 144-152 (2006).
36. Barbour, J. D. & Grant, R. M. The Clinical Implications of Reduced Viral Fitness. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 6, 151-158 (2004).
37. Weinstock, H. et al. Prevalence of mutations associated with reduced antiretroviral drug susceptibility among human immunodeficiency virus type 1 seroconverters in the United States, 1993-1998. *J. Infect. Dis.* 182, 330-333 (2000).
38. Cane, P. et al. Time trends in primary resistance to HIV drugs in the United Kingdom: multicentre observational study. *BMJ* 331, 1368 (2005).
39. John, M., Moore, C. B., James, I. R. & Mallal, S. A. Interactive selective pressures of HLA-restricted immune responses and antiretroviral drugs on HIV-1. *Antivir. Ther.* 10, 551-555 (2005).
40. Karlsson, A. C. et al. Dual pressure from antiretroviral therapy and cell-mediated immune response on the human immunodeficiency virus type 1 protease gene. *J Virol* 77, 6743-6752 (2003).
41. Mason, R. D. & Grant, M. D. A therapy-related point mutation changes the HLA restriction of an HIV-1 Pol epitope from A2 to B57 and enhances its recognition. *AIDS* 19, 981-984 (2005).
42. Nolan, D., James, I. & Mallal, S. HIV/AIDS. HIV: experiencing the pressures of modern life. *Science* 307, 1422-1424 (2005).
43. 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. *J. Virol.* 79, 13239-13249 (2005).
44. Decker, J. M. et al. Antigenic conservation and immunogenicity of the HIV coreceptor binding site. *J. Exp. Med.* 201, 1407-1419 (2005).
45. Mujeeb, A., Kerwin, S. M., Egan, W., Kenyon, G. L. & James, T. L. A potential gene target in HIV-1: rationale, selection of a conserved sequence, and determination of NMR distance and torsion angle constraints. *Biochemistry* 31, 9325-9338 (1992).
46. Pique, C., Tursz, T. & Dokhelar, M. C. Mutations introduced along the HTLV-I envelope gene result in a non-functional protein: a basis for envelope conservation? *EMBO J.* 9, 4243-4248 (1990).
47. Zur, M. J. et al. Novel evolutionary analyses of full-length HIV type 1 subtype C molecular clones from Cape Town, South Africa. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 18, 1327-1332 (2002).
48. Wei, X. et al. Antibody neutralization and escape by HIV-1. *Nature* 422, 307-312 (2003).
49. Amella, C. A., Sherry, B., Shepp, D. H. & Schmidtmayerova, H. Macrophage inflammatory protein 1alpha inhibits postentry steps of human immunodeficiency virus type 1 infection via suppression of intracellular cyclic AMP. *J. Virol.* 79, 5625-5631 (2005).
50. Koeppe, J. R., Campbell, T. B., Rapaport, E. L. & Wilson, C. C. HIV-1-specific CD4+ T-cell responses are not associated with significant viral epitope variation in persons with persistent plasma viremia. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 41, 140-148 (2006).
51. Kim, B., Hathaway, T. R. & Loeb, L. A. Human immunodeficiency virus reverse transcriptase. Functional mutants obtained by random mutagenesis coupled with genetic selection in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 271, 4872-4878 (1996).
52. van der Burg, S. H. et al. Induction of a primary human cytotoxic T-lymphocyte response against a novel conserved epitope in a functional sequence of HIV-1 reverse transcriptase. *AIDS* 9, 121-127 (1995).
53. Geretti, A. M. The clinical significance of viral fitness. *J. HIV. Ther.* 10, 6-10 (2005).
54. Simon, V. et al. Natural variation in Vif: differential impact on APOBEC3G/3F and a potential role in HIV-1 diversification. *PLoS. Pathog.* 1, e6 (2005).
55. Reeves, J. D. & Piefer, A. J. Emerging drug targets for antiretroviral therapy. *Drugs* 65, 1747-1766 (2005).
56. Amberg, S. M., Netter, R. C., Simmons, G. & Bates, P. Expanded tropism and altered activation of a retroviral glycoprotein resistant to an entry inhibitor peptide. *J. Virol.* 80, 353-359 (2006).
57. Klinger, P. P. & Schubert, U. The ubiquitin-proteasome system in HIV replication: potential targets for antiretroviral therapy. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 3, 61-79 (2005).
58. Sticht, J. et al. A peptide inhibitor of HIV-1 assembly in vitro. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 12, 671-677 (2005).
59. Zhu, C., Matthews, T. J. & Chen, C. H. Neutralization epitopes of the HIV-1 primary isolate DH012. *Vaccine* 21, 3301-3306 (2003).
60. Berthou, L., Sebastian, S., Sokolskaja, E. & Luban, J. Cyclophilin A is required for TRIM5[alpha]-mediated resistance to HIV-1 in Old World monkey cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 102, 14849-14853 (2005).

## Correspondencia:

Enrique Espinosa

Centro de Investigación en Enfermedades  
Infecciosas (CIENI), Instituto Nacional  
de Enfermedades Respiratorias,

Calzada de Tlalpan Núm. 4502, 14080 México, D.F.

Tel. 56664539, exts. 272 y 283. Tel y fax 56667985

Correo electrónico: enrique.espinosa@cieni.org.mx