

Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen
Volume **51**

Número
Number **1**

Enero-Marzo
January-March **2004**

Artículo:

Taxonomía y virus de la inmunodeficiencia humana

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Taxonomía y virus de la inmunodeficiencia humana

Palabras clave: Taxonomía, filogenia, retrovirus, virus de la inmunodeficiencia humana, serotipificación.

Key words: Taxonomy, phylogeny, retroviruses, human immunodeficiency virus, serotyping.

Recibido: 9/10/2003

Aceptado: 13/11/2003

José Julio Sierra García de Quevedo*

* Jefe del Departamento de Inmunoanálisis, Unidad de Patología Clínica. Guadalajara, Jalisco, México.

Correspondencia:

M en C. José Julio Sierra García de Quevedo

Departamento de Inmunoanálisis Unidad de Patología Clínica.

Laboratorios Centrales. Av. México 2341 CP 44650 Guadalajara, Jalisco, México.

Resumen

El virus de la inmunodeficiencia humana es un retrovirus que debido a su mecanismo de replicación presenta una gran diversidad biológica. Constantemente se detectan nuevas cepas o recombinaciones que se van integrando en el panorama general de la filogenia del VIH. En su clasificación taxonómica además de considerarse sus propiedades genéticas también se toma en cuenta sus propiedades biológicas. La inmunología a través de la técnica de ELISA con péptidos sintéticos puede aportar datos que ayuden a determinar su biodistribución, asociaciones fenotípicas y mecanismos de transmisión para lograr una clasificación lo más completa posible.

Introducción

La taxonomía es una rama de la biología que se encarga de clasificar y nombrar a las diferentes especies.¹ Su estudio comprende las bases conceptuales, biológicas y morfológicas de un organismo. La filogenia integra aspectos biogeográficos y ecológicos en un contexto evolutivo apoyándose en la anatomía comparada, la fisiología, la biología del desarrollo, la genética, la biología molecular, la biogeografía y la informática. Con la información obtenida se elabora una clasificación

Summary

The Human Immunodeficiency Virus is a Retrovirus since its replication mechanism shows a great biological diversity. Constantly new clades and recombinations are detected and they are integrated in the general panorama of the HIV phylogenetics. In its taxonomic classification it is important to consider its genetics as well as the biological properties. Immunology through ELISA with synthetic peptides can contribute to an increase in the specific knowledge of biodistribution, phenotypic associations, and transmission routes as well as to get the most complete classification possible.

37

lo más completa posible sobre un organismo estudiado.² El estudio y las relaciones evolutivas entre los organismos se establecen de dos maneras, en forma descendente: de padre a hijo o en forma horizontal o de parentesco: de hermano a hermana. Así se establecen dos patrones el *Cladogenético* que es la división evolutiva de un linaje dando origen a especies o clados y el *Anagenético* que se refiere a las modificaciones de una característica entre los descendientes de una línea común originando géneros. La sistemática filogenética analiza estos patrones desde el enfoque *Filogenético* que

agrupa a las especies con base en similitudes morfológicas y el *Cladístico* donde las relaciones taxonómicas se infieren con base en los cambios evolutivos de una característica común en los miembros de una especie.³ La sistemática con estas evidencias elabora hipótesis, genealogías, cladogramas y árboles filogenéticos.

Para el estudio y clasificación taxonómica de los virus deben de tomarse en cuenta las siguientes características: A) Propiedades morfológicas del virón: tamaño, forma y presencia o no de envoltura. B) Características genómicas que incluyen: tipo de ácidos nucleicos, cantidad, alineación, polaridad y segmentos de la cadena nucleotídica. C) Propiedades de las proteínas constitutivas: cantidad, peso molecular, actividad funcional y orden de la secuencia de aminoácidos. D) Mecanismo de replicación, transcripción, citopatogenicidad y formación o no de sincitio. E) Propiedades físicas como estabilidad a cambios de pH, temperatura y solventes. F) Propiedades biológicas que incluyen la capacidad de estimular al sistema inmune, respuesta serológica, tropismo celular, rutas de transmisión, citopatogenicidad, virulencia, manifestaciones clínicas y distribución geográfica.⁴

38

Clasificación taxonómica del VIH

Taxonómica y filogenéticamente el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pertenece a la familia de los *Retrovirus*, al género de los *Lentivirus*, se subdivide en tipo 1 y 2 y sus huéspedes naturales son los vertebrados. La familia de los *Retrovirus* es un grupo de ARN virus de cadena sencilla cuyas relaciones genéticas se establecen a partir de la composición de los aminoácidos de la enzima transcriptasa reversa, de la secuenciación de los genes *gag* y *env*.⁵ Se conocen siete subfamilias: los *Alfaretrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Lentivirus* y *Espumaretrovirus*.⁶ Los *Deltaretrovirus*, también llamados *Oncovirus*, están asociados a la leucemia de células T y a la leucemia de células peludas (HTLV-1 y

HTLV-2) y los *Lentivirus* al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Estos son los únicos retrovirus que hasta este momento se han asociado con una enfermedad en humanos.

En la subfamilia de los *Lentivirus* (del latín *lentus*: lento) se agrupan los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los virus de la inmunodeficiencia en simios (SIV *mac*, *cpz*, *sm*), y otros géneros que infectan a equinos, caprinos y bovinos. Filogenéticamente están más emparentados el SIV y el VIH-2 que el VIH-1 ya que la similitud en la secuencia de sus nucleótidos es de 75% mientras que entre el VIH-1 y 2 es de 60%. Hasta 1987 el VIH estaba clasificado en la subfamilia de los *Oncovirus* y se denominaba HTLV-3.⁷

Morfológicamente la partícula del VIH mide 100 nm de diámetro, es de forma esférica y tiene una bicapa lipídica que toma de la célula huésped donde se insertan 72 proteínas glicosiladas (gp) necesarias para el reconocimiento y penetrancia viral. Su genoma consta de 9.2 kilobases, integrado en dos copias de ácido ribonucleico de cadena sencilla, (ssARN) en forma lineal, de polaridad positiva, en el sentido 5' - 3' y flanqueado por dos marcos de repetición. Consta de tres genes principales: el *gag* que codifica para las proteínas de la matriz y cápside (p24). El *env* para las proteínas de la envoltura. (gp120 y gp41) El *pol* para la enzima transcriptasa reversa, proteasa e integrasa y seis genes integradores *vif*, *vpr*, *rev*, *vpu*, *tat* y *nef* necesarios en su replicación. En el VIH-2 el gen *vpu* se conoce como *vpx*.

En su mecanismo de replicación la transcriptasa reversa transcribe el ARNss en ácido desoxirribonucleico de doble cadena (ADNd) y lo inserta en el genoma de la célula huésped llamándose en esta fase provirus. El proceso de traducción se lleva a cabo mediante la ingeniería genética de la célula huésped que junto con la expresión de los genes integradores ensamblan las proteínas sintetizadas para la formación del virión. La replicación viral ocasiona disfunción celular, induce la formación de sincitio, muerte celular y apoptosis.⁸

La citopatogenicidad se produce mediante la interacción del virus con tres líneas celulares: los linfocitos T, los monocitos/macrófagos y las células dendríticas. Su tropismo celular se dirige al marcador CD4 de los linfocitos T cooperadores que a través de interleucinas y citocinas activan a los linfocitos B para la producción de anticuerpos específicos y a las células presentadoras de antígeno MHC clase II. La actividad de los macrófagos se estimula mediante el interferón gamma; la actividad citotóxica de los linfocitos TCD8+ y células asesinas naturales (NK) mediante la interleucina 12. Las principales alteraciones de la inmunidad celular se manifiestan en el incremento de la reacción de hipersensibilidad, de la actividad citotóxica del linfocito TCD8+ y disminución en el número de los linfocitos T CD4+. En la actividad humorar las alteraciones presentadas son la activación policlonal del linfocito B, la formación de autoanticuerpos, disminución en la producción de Inmunoglobulinas, disfunción de los neutrófilos, inmunosupresión, anergia, desarrollo de infecciones oportunistas y neoplasias.⁹ De sus propiedades biológicas se sabe que el virus se inactiva mediante el calor, (56°C durante 10 a 20 minutos) uso de desinfectantes (glutaraldehído, hipoclorito, alcohol, etanol, peróxido de hidrógeno y formaldehído) y es sensible a la desecación al medio ambiente. El mecanismo de transmisión tanto para el VIH-1 como para el 2 es por contacto sexual, sanguíneo y perinatal. En el caso del VIH-2 su virulencia es menor y su periodo de latencia más prolongado. Ambos tipos se distribuyen mundialmente, pero el VIH-2 se limita más al continente africano.

Diversidad del VIH

En los ARN virus existe una relación evolutiva entre el mecanismo de replicación y el genoma viral con repercusiones filogenéticas e inmunológicas importantes. La enzima transcriptasa reversa encargada de la transcripción no cuenta con un sistema de reparación en la incorporación de las bases

nucleotídicas, produciéndose mutaciones y una gran diversidad genética. En el caso del VIH-1 se ha calculado que el índice de error en la incorporación de los nucleótidos es de 10^{-4} bases por ciclo. Lo que equivale a la sustitución de una base por genoma por ciclo de replicación. En una persona sin tratamiento se estima que se presentan hasta 300 ciclos de replicación por año.¹⁰ Los nuevos organismos producidos se denominan "*quasi-species*" o subtipos y son especies heterólogas relacionadas entre sí con una diversidad genómica de 15 a 20% integrando cada uno un clado distinto. Este sistema de replicación le proporciona al virus un mecanismo de evasión frente a la actividad neutralizante de los anticuerpos, evadiendo la respuesta inmune del huésped, por lo que no pueden evitarse las reinfecciones o infecciones con diferentes tipos o subtipos.

Del VIH-1 se conocen tres grupos mayores: M, N y O. Del grupo M se han clasificado 10 subtipos de la A a la J; del grupo O, 19 y del N tres. Además de cada subtipo se han identificado múltiples variantes, por ejemplo, del subtipo B se conocen 1,912 y del subtipo D 182.¹¹ También se da el caso de recombinaciones intersubtipos producto de recombinaciones entre los genes *gag* y *env* como A/B, A/E, A/G, o incluso triples combinaciones A/G/I, A/G/H cuya diferencia genómica va de 10 a 5%.¹² Se ha discutido si los subtipos E y G son verdaderos subtipos o recombinaciones intersubtipos de A/E, G/A y A/G. Actualmente se acepta más la teoría de que son verdaderos subtipos estableciéndose como clados distintos en el árbol filogenético del VIH-1. Del VIH-2 se conocen los subtipos A, B, C, D y E.

Tanto *in vivo* como *in vitro* se presentan diferencias en las características biológicas de estos subtipos. Se ha sugerido que algunas cuasiespecies se asocian más a un mecanismo de transmisión que a otro. El subtipo B se asocia más a las relaciones sexuales hombre-hombre y usuarios de drogas intravenosas. Los subtipos C y E a la transmisión heterosexual, replicándose más fácilmente en las

células de Langerhans de la mucosa vaginal, cérvix y prepucio que en la pared de la mucosa rectal. Otra diferencia es que el subtipo E afecta menos los niveles de los linfocitos CD4+ en comparación con el subtipo B.¹³ Biogeográficamente el subtipo B se distribuye en el continente Americano, Europa, Japón, Australia y el Caribe. Los subtipos A y D en África Ecuatorial, el C en Sudáfrica e India, el E en África Central y Tailandia, el F en Brasil, el G y H en Rusia y África Central y el I en Chipre. Las cuasiespecies del grupo O se han detectado en Camerún y las del N en África. Los subtipos del VIH-2 en África, Sudamérica e India.¹⁴ Cada vez más se detecta la emergencia de diferentes subtipos en una misma región modificándose la biogeografía del VIH.

Biología molecular, inmunología y propiedades biológicas del VIH

40

Para establecer el genotipo de un virus, la biología molecular mediante la reacción en cadena de la polimerasa secuencia los nucleótidos de un gen específico. Mientras más lejanos sean los organismos entre sí, entonces se utilizan regiones genómicas que no varíen mucho. Si los organismos son muy parecidos se seleccionarán secuencias variables o regiones hipervariables. En el caso del VIH-1 los genes que se utilizan para su clasificación son el *gag* y *env*. El gen *gag* de las proteínas del core es más estable en comparación con el gen *env* de las proteínas de la envoltura. Este último gen tiene cinco regiones hipervariables: V1 a V5. La región C2V3 codifica los aminoácidos de la gp120. Esta proteína consta de 35 aminoácidos, es de forma globular y sus extremos se unen por un puente de cisteína. En el asa V3 se encuentra el dominio principal de neutralización (PND) que es el epítope de reconocimiento y sitio de interacción con el receptor CD4 del linfocito T. Aunque esta región es altamente variable debe conservar ciertas estructuras para mantener sus propiedades biológicas como: infectividad, tropismo celular y formación

del sincitio.¹⁵ Por ejemplo, cambios conformacionales de la gp120 difieren en la capacidad de infectividad sobre células T o sobre los macrófagos¹⁶ y un cambio en la posición 4 ó 9 en los aminoácidos de esta región produce una variación antigenica capaz de evadir la respuesta inmune.¹⁷

La inmunología a través de la serotipificación puede ayudar a determinar el fenotipo y las propiedades biológicas necesarias para la clasificación viral. Esta técnica se realiza mediante el inmunoensayo ligado a enzimas con péptidos sintéticos. (P-ELISA) en comparación con las técnicas moleculares es más sencilla y fácil de realizar, con alta sensibilidad y especificidad y tiene su principal aplicación en la predicción del fenotipo existente en una región geográfica o cuando se requiere hacer un muestreo en una gran población.¹⁸ Se determina la secuencia de aminoácidos del asa V3 de la gp120 y se construye una cadena de péptidos alineados con base en el orden de la proteína original. Esta cadena se adhiere a una superficie sólida mediante absorción pasiva, la unión antígeno-anticuerpo se detecta con un segundo anticuerpo marcado enzimáticamente y se adiciona el substrato para revelar el color cuya intensidad es proporcional a la cantidad de anticuerpos. Con esta técnica de serotipificación se han realizado varios estudios en diferentes partes del mundo con el apoyo de la Organización Mundial de la Salud dentro de un programa de diseño y aplicación de vacunas.¹² Por ejemplo, en el estado de Jalisco se realizó un estudio en 360 pacientes y se detectó una biodistribución del subtipo B en 12 (92.3%) de las 13 zonas jurisdiccionales del territorio estatal. El subtipo D se localizó en 7 (53.8%) el A y las recombinaciones A/D y A/C en tres (23.0%) zonas.¹⁹ Sin embargo, la constante emergencia de nuevos subtipos y variantes seguramente va a ir cambiando el panorama de distribución como ha sucedido en otras regiones.

Conclusión

El uso complementario de las técnicas moleculares e inmunológicas puede ayudar a que se esta-

blezcan conceptos taxonómicos útiles en el control y prevención de esta epidemia. Sin embargo, debido a su gran variabilidad y complejidad, es necesario establecerse un monitoreo continuo que ayude a detectar los nuevos subtipos y variantes emergentes para integrarlos en el árbol filogenético de este retrovirus.

Referencias

1. Martínez RE, Martínez RJC. Filogenias de los seres vivos: aplicaciones y problemas. *Ciencia* 1997; 48: 58-63.
2. Pérez PLG. La taxonomía en México: el papel de la sistemática filogenética. *Ciencia* 1997; 48: 33-39.
3. Skeleton P. Evolutionary relationships and history. In: Skeleton P, editor. *Evolution a Biological and Paleontological Approach*. Harlow, England: Addison Wesley; 1996: 510-559.
4. Fields BF. *Introduction to Virology*. In: Fields BF, Hirsch MS, Melinck JL, Monath TP, Roizman B, editors. *Virology*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1990: 3-8.
5. Biberfeld G, Brown F, Esparza J, Essex M, Gallo RC, Montagnier L, Najera R, Risser R, Schild G. Meeting Report WHO Working Group on Characterization of HIV-Related Retroviruses: Criteria for characterization and proposal for a nomenclature system. *AIDS* 1987; 1: 189-190.
6. Coombs R. *Human Immunodeficiency Virus Infection and the Acquired Immunodeficiency Syndrome: viral pathogenesis, laboratory diagnosis and monitoring*. In: Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, Mooreland AA, editors. *Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*. 3th ed. Edinburgh: Mosby, 2003: 177-195.
7. Martin LS, Cougar S, Loskoski SL. Disinfection and inactivation of HTLV-III. *J Infect Dis* 1985; 152: 400-403.
8. Gelderblom HA. Assembly and morphology of HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999; 15: 273-283.
9. Ffrench R, Stewart G, Penny R, Levy J. How HIV produces immunodeficiency. *MJA* 1996; 164: 166-170.
10. Roberts JD, Bebenek K, Kunkel TA. The accuracy of reverse transcriptase. *Science* 1998; 242: 1171-1173.
11. Hu DJ, Dondero TJ, Rayfield MA, George R, Schochetman G, Jaffe HW, Luo CH, Kalish ML, Weiner BG, Pau CH, Schable ChA, Curran J. The Emerging Genetic Diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research and prevention. *JAMA* 1996; 275: 210-215.
12. Vann der Groen G, Nyambi PN, Beirnaert E, Davis D, Fransen K, Heyndrickx L, Ondoña P, Van der Auwera G, Janssens W. Genetic variation of HIV type 1: relevance of interclade variations to vaccine development. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14: S211-S221.
13. Mastro TD, Kitayaporn D. HIV Type 1 Transmission probabilities: estimates from epidemiological studies. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1988; 14: S223-S227.
14. McCutchan FE, Salminen Mo, Carr JK, Burke D. HIV-1 genetic diversity. *AIDS* 1996; 10: S13-S20.
15. Javaherian K, Langlois A, MC Danal Ch, Ross KL, Eckler L, Je-llis C, Proffy AT, Rusche J, Bolognesi D, Putney S, Matthews T. Principal neutralizing domain of the human immunodeficiency virus type 1 envelope protein. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86: 6768-6772.
16. Ebenbichler Ch, Westervelt P, Carrillo A, Henkel T, Johnson D, Ratner L. Structure-function relationship of the HIV-1 envelope V3 loop tropism determinant: evidence for two distinct conformations. *AIDS* 1993; 7: 639-646.
17. Langedijk J, Zwart G, Goudsmit J, Meloen RH. Fine specificity of antibody recognition may predict amino acid substitution in the third variable region of gp120 during HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995; 11: 1153-1162.
18. Cheingsong-Popov R, Osmanov S, Pau CH, Schochtmann G, Barin F, Holmes H, Francis G, Ruppach H, Dietrich U, Lister S, Weber J, and the UNAIDS Network for HIV-1 Isolation And Characterization. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14: 311-318.
19. Sierra JJ, López Márquez F, Escoto-Delgadillo M, López Lomeli M, Vázquez Valls E. *HIV-1 subtypes and recombinations in seropositives from Jalisco, México*. MoPeA2025 Proceeding of the XIII International AIDS Conference 2000 Jul 9-14; July 2000. Durban, South Africa.

