

Epidemiología Molecular, Genotipos y Recombinantes del VIH-1: Implicaciones en la pandemia

Boris Renjifo. MD, MS. PhD., Universidad de Harvard, EE.UU.

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2 (VIH-2) son miembros del género de los Lentivirus en compañía de virus de la inmunodeficiencia de los simios, inmunodeficiencia de los felinos e inmunodeficiencia de los bovinos, el virus visna y el virus de la encefalopatía y artritis caprina. Independientemente del tropismo del huésped o la enfermedad que producen, los retrovirus comparten similitudes en la estructura del virion, la organización del genoma y los pasos en su ciclo de replicación.

La partícula del VIH tiene aproximadamente 100 nm de diámetro y está compuesta por proteínas codificadas por los genes gag, pol y env. La membrana externa contiene las proteínas virales gp120 y gp41 además de una variedad de proteínas derivadas del hospedero. La nucleocápside está ensamblada a través de interacciones entre proteínas y de proteínas con el ácido ribonucleico (RNA). El genoma tiene aproximadamente 9-10 kilobases y dos copias de RNA están dentro de la nucleocápside. Varias moléculas de origen viral y celular con actividad enzimática son también incorporadas en el virion. La transcriptasa reversa (RT), proteasa (PR), integrasa (IN) y Vpr son proteínas necesarias para los eventos tempranos de replicación e integración del provirus. El t-RNA celular y la ciclofilina son necesarios para la iniciación de la transcripción reversa y durante eventos tempranos de la replicación.

El genoma RNA es de polaridad positiva y tiene secuencias repetidas llamadas R en ambos extremos de la molécula. Una secuencia única en el extremo 5' (U5) y una secuencia única en el extremo 3' (U3) y la región R son replicadas durante la síntesis del provirus, generando las secuencias terminales repetidas llamadas LTR. La organización genética del VIH se asemeja a la de todos los retrovirus en los cuales los genes de gag, pol y env ocupan la mayor parte del genoma. Sin embargo, seis genes accesorios (tat, rev, vif, vpr, vpu y nef) localizados en la porción media y extremo 3' del genoma tienen funciones reguladoras que permiten que el VIH-1 tenga nuevas formas de interactuar con la maquinaria celular así como de evadir la respuesta inmune.

La replicación del VIH-1 se puede dividir en eventos que ocurren antes o después de la integración del DNA de doble cadena o provirus. La fase inicial corresponde a la unión de la gp120 con el receptor CD4 y otras moléculas correceptoras de la célula huésped. Esta unión produce cambios conformacionales que inducen la fusión y entrada de la nucleocápside al citoplasma, al igual que la activación de la RT para iniciar la síntesis del DNA proviral. Varios pasos son necesarios para esta síntesis del provirus, que incluyen la utilización de ambas copias de RNA, saltos de la RT entre las dos copias de RNA, la degradación de RNA y la síntesis de DNA. La utilización de dos copias de RNA durante la transcripción reversa produce un provirus híbrido de las dos moléculas de RNA progenitoras. El provirus es transportado al núcleo, en donde es integrado en el cromosoma celular por la IN. El provirus al igual que

cualquier otro elemento genético de la célula está bajo mecanismos reguladores de expresión. La síntesis de RNA mensajeros es regulada por proteínas virales y celulares a través de elementos acrecentadores y promotores localizados en la región U3 de los LTR. La maquinaria de transcripción y traducción celular es utilizada para la síntesis de proteínas virales.

La extensa variación de genomas virales es una característica del VIH puesto que la RT no tiene la capacidad enzimática para detectar o corregir errores cometidos durante la síntesis del provirus. Durante cada ciclo de replicación se pueden introducir inserciones, deleciones o mutaciones puntuales en la nueva progenie viral. Otra fuente de variación genética es la introducción de mutaciones durante la transcripción de RNA genómicos por la polimerasas de RNA celular y en menor grado durante la replicación del DNA por las polimerasas de DNA celular. En caso que una célula sea infectada por dos virus distintos, durante el ensamblaje de una nueva partícula viral se pueden incorporar una copia de RNA proveniente de cada uno de los virus infectantes. La recombinación no solamente aumenta la diversidad genética viral sino que además puede generar virus con propiedades biológicas que no existían en los virus progenitores. El fenómeno de recombinación y su importancia en la epidemia mundial del VIH ha sido observada al estudiar VIH-1 pertenecientes a diferentes subtipos. Tanto el número de mutaciones introducidas durante cada ciclo, como el efecto conferido por cada mutación para mejorar o empeorar la capacidad del virus para replicarse, son presiones evolutivas que determinan la habilidad del nuevo virus para transmitirse, evadir el sistema inmune o desarrollar resistencia a drogas. La variación de genomas virales se puede observar no solamente entre individuos infectados sino también dentro una persona infectada. En un mismo individuo es posible detectar quasi-especies o poblaciones de genomas virales que se pueden distinguir basados en estudios filogenéticos de sus secuencias nucleótidas.

Inicialmente, los VIH-1 fueron clasificados, de acuerdo con origen de la muestra, en VIH-1 Africanos o VIH-1 Americanos. Con el advenimiento de la secuenciación se evidenció que las secuencias de virus aislados en África eran notablemente mayores que los aislados de los Estados Unidos o Europa. Basados en análisis filogenéticos se describió que los VIH-1 pueden ser separados en tres grupos distintos, los que pertenecen al grupo principal o “Main” (M), los del grupo de afuera o “Outlier” (O) y los del grupo de no-M no-O (N). La gran mayoría de las infecciones en el mundo son causadas por virus del grupo M. Infecciones por VIH-1 del grupo O o del grupo N están limitadas al África Central y del Oeste o el Camerún, respectivamente.

La comparación de secuencias de virus del grupo M aislados alrededor del mundo, mostró que existen VIH-1 genéticamente equidistantes los cuales fueron llamados subtipos. La variación genética entre secuencias nucleótidas de virus pertenecientes a diferentes subtipos oscila entre 20-30 %. En regiones geográficas en donde más de un subtipo de VIH-1 circula en la población general, es común encontrar VIH-1 recombinantes entre dos o más subtipos. A pesar de existir múltiples recombinantes descritos solamente en un individuo, existen recombinantes que han sido responsables de extensas epidemias en Africa y Asia. Estos recombinantes han sido denominados “Forma de Recombinante Circulante” (CRF).

A pesar que hoy en día se han descrito nueve subtipos de VIH-1 (A, B, C, D, F, G, H, J y K) y

catorce CRF, la distribución de estos genotipos no es uniforme en el mundo (Tabla 1). Aunque la falta de muestreos sistemáticos para la detección de subtipos a través del tiempo ha dificultado el conocer con certeza la distribución y prevalencia de subtipos en todas las regiones en el mundo, los estudios en regiones geográficas con varios subtipos circulantes en la población indican que los genotipos son otro factor importante en la forma como la pandemia ha progresado.

El subtipo B de VIH-1 fue el virus predominante durante el inicio de las epidemias en Norte y Sur América, Europa Occidental y Australia. El grupo inicialmente afectado correspondió a varones que tiene relaciones sexuales con varones (VSV) y personas que practicaban el consumo de drogas intravenosas (CDI). Igualmente, infecciones por el subtipo B fueron informadas en Tailandia, India y África del Sur pero fueron rápidamente reemplazadas por el subtipo C en India y África del Sur y por el subtipo E en Tailandia, afectando no solamente a VSV y CDI sino también la población heterosexual. En América Central, América del Sur y el Caribe, el subtipo B continúa siendo el VIH predominante pero ya se han informado casos de subtipo C en Brazil y de subtipo F y sus recombinantes B/F en Argentina.

En la actualidad, el VIH-1 subtipo C es responsable por la mayoría de la infecciones en el mundo, así como por las tasas de infección más altas que se han registrado desde el descubrimiento del VIH-1. En países como Lesoto, Botswana, Suazilandia, Namibia, Zinbabwe, Zambia, Malawi, Mozambique, África del Sur y Etiopía, donde el virus prevalente es el VIH-1 subtipo C, las tasas de infección en mujeres embarazadas fluctúan entre 20-40%. El subtipo C se ha extendido a otros países como Tanzania, donde la epidemia de VIH-1 era exclusivamente causada por subtipos A y D. Hoy en día en Tanzania, el subtipo C es causante de un número alto de infecciones nuevas y de la generación de recombinantes A/C y C/D, así como de la generación y expansión de CRF10_CD.

La importancia de los recombinantes en la pandemia de VIH-1 se ha podido comprobar por las epidemias heterosexuales por CRF01_AE en Asia y CRF02_AG en África Central y Occidental y por CRF03_AB en Rusia. Así mismo, se ha estimado que hoy en día un 10 a 50 % de los virus transmitidos en Africa Central y Africa del Este corresponden a VIH-1. Este número tan alto de recombinantes sugiere que la re-infección de una persona ya infectada no es un fenómeno aislado sino que ocurre con frecuencia en esta población.

Aunque la existencia de varios subtipos de VIH-1 ha sido descrita por algunos grupos como un fenómeno sin importancia biológica en VIH-1, otros grupos hemos mostrado que algunos subtipos, especialmente el subtipo C y algunos recombinantes, tienen propiedades biológicas diferentes en cuanto a transmisión y producción de enfermedad. Se ha descrito que al fenotipo de los virus que se transmiten por contacto heterosexual o de madre a niño pertenecen virus trópicos de macrófagos, no productores de sincicio y que utilizan la molécula CCR5 como correceptor de entrada en la célula. Durante la progresión a SIDA se produce un cambio a virus trópicos de células T, productores de sincicio y que utilizan la molécula CXCR4 como correceptor de entrada. Este comportamiento biológico se ha descrito en aislados de pacientes infectados por varios subtipos, excepto con el subtipo C en quienes a pesar de progresar a

SIDA, los aislados nunca pierden el tropismo por macrófagos ni la utilización de CCR5. En Tanzania la transmisión perinatal por VIH-1 subtipo C y recombinantes fue mayor que la observada por VIH-1 del subtipo D. En Tailandia, el riesgo de transmisión por contacto heterosexual es mayor en personas infectadas por CRF01_AE que en personas infectadas por subtipo B. En Senegal, personas infectadas con subtipo A progresaron más lentamente desde la seroconversión a SIDA, en comparación con otros subtipos.

La continua generación de variantes genéticas de VIH-1 es una de las razones por las cuales no ha sido posible desarrollar una vacuna preventiva como por la expansión de virus resistentes a terapias antirretrovirales. La habilidad del VIH-1 de mutar, producir infecciones latentes, recombinar y seleccionar nuevas variantes, dificulta la inducción de anticuerpos neutralizantes y células citotóxicas, existiendo actividad cruzada entre virus pertenecientes a subtipos distintos.

La educación, el uso de condones, el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual, la búsqueda de VIH en bancos de sangre y el tratamiento de personas infectadas, son medidas que pueden tener un impacto para reducir el número de infecciones nuevas por VIH-1.

REFERENCIAS

Sobre la epidemia del VIH-1:

-UNAIDS/WHO. Report on the global HIV/AIDS epidemic. Geneva: UNAIDS/WHO, 2001.

Sobre la composición molecular, replicación, y regulación del VIH-1.

-Coffin. 1998. Retrovirology: An overview. In: GP Wormser, eds. AIDS and other malignancies of HIV infection. Philadelphia: Lippincot-Raven Publishers, 1998: 41-121.

-Emerman M, Malim MH. HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology. *Science*, 1998;280:1880-1884.

Sobre subtipos del VIH-1 en general:

-Essex, M. Human Immunodeficiency Viruses of the Developing World. *Advan Virus Res*, 1999;53:71-88.

-Tatt, ID, Barlow KL, Nicoll A, Clewley JP. The public health significance of HIV-1 subtypes. *AIDS* 2001;15:S59-S71

-Robertson DL, Anderson AP, Bradac JA, et al. HIV-1 nomenclature proposal. A reference guide to HIV-1 classification. In: *Human Retroviruses and AIDS: A compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences*. Kuiken CFB, Hahn BH, Korber B, McCutchan F, Marx PA, Mellors JW, Mullins JL, Sodroski J, Wolinsky S, eds. Los Alamos, NM: Theoretical Biology and Biophysics Group, 1999:492-505.

-Renjifo B, Essex M. HIV-1 Subtypes and recombinants. In: *AIDS in Africa*. Essex M, Mboup S, Kanki PJ, Marlink R, Tlou SD, eds, Kluwer Academic, 2002, In Press.

-Renjifo B, Chaplin B, Mwakagile D, et al. Epidemic expansion of HIV type 1 subtype C and

- recombinant genotypes in Tanzania. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1998;14:635-638.
- Renjifo B, Gilbert P, Chaplin B, et al. Emerging recombinant human immunodeficiency viruses: uneven representation of the envelope V3 region. *AIDS*, 1999;13:1613-1621.
 - McCutchan FE. Understanding the genetic diversity of HIV-1. *AIDS*, 2000;14:S31-S44.
 - Ping LH, Nelson JA, Hoffman IF, et al. Characterization of V3 sequence heterogeneity in subtype C human immunodeficiency virus type 1 isolates from Malawi: underrepresentation of X4 variants. *J Virol*, 1999;73:6271-6281.
 - Korber BT, MacInnes K, Smith RF, et al. Mutational trends in V3 loop protein sequences observed in different genetic lineages of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, 1994;68:6730-6744.
 - Gao F, Robertson DL, Morrison SG, et al. The heterosexual human immunodeficiency virus type 1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. *J Virol*, 1996;70:7013-7029.

Sobre diferencias biológicas de subtipos del VIH-1:

- Kanki PJ, Hamel DJ, Sankale JL, et al.: Human Immunodeficiency virus type I subtypes differ in disease progression. *J Infect Dis*. 1999; 179:68-73.
- Renjifo B, Fawzi W, Mwakagile D, et al. Differences in perinatal transmission among human immunodeficiency virus type 1 genotypes. *J Hum Virol*, 2001;4:16-25.
- Neilson JR, John GC, Carr JK, et al.: Subtypes of human immunodeficiency virus type 1 and disease stage among women in Nairobi, Kenya. *J Virol* 1999; 73:4393-4403.

Información disponible a través del Internet:

-<http://www.unaids.org/>

En este sitio se puede encontrar datos acerca de la epidemia, estadísticas, programas, derechos humanos, prevención y acceso a otros sitios relacionados con VIH.

-<http://hiv-web.lanl.gov/>

Este es el banco de datos del Laboratorio Nacional de Los Alamos, USA. Es un sitio extremadamente útil en el estudio de VIH y es sitio de referencia utilizado a través del mundo. En esta dirección se puede entrar a los bancos de secuencias de retrovirus, bancos de resistencia a drogas antirretrovirales, banco de inmunología de retrovirus y banco de programas de vacunación. El banco de secuencias se pueden obtener secuencias de nucleótidos o aminoácidos de fragmentos o genomas completos, programas interactivos para el análisis de secuencias, acceso al compendio de revisiones de temas de interés sobre VIH y retrovirus en general incluyendo evolución, clasificación, vacunas entre otros.

-<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Centro Nacional de Información de Biotecnología.

Aquí se puede ingresar al Genbank, PubMed y muchos otros sitios de interés para investigadores. Hoy en día es requisito enviar las secuencias al Genbank antes que un manuscrito pueda ser publicado. En PubMed se pueden hacer búsquedas de referencias bibliográficas y tener acceso a los resúmenes de los manuscritos. Igualmente, hay acceso a programas interactivos para el análisis de secuencias.

Tabla No. 1

Continente	Región	Genotipos ^a	Personas infectadas ^b	Modo de Transmision ^c
Africa	Subsahara	A,C,D, CRF02_AG	28.100.000	Het , MI
	Norte y Medio Oriente	B	440.000	VSV, CDI
Asia	Sur y Sudoriental	CRF01_AE, C, B	6.100.000	Het, CDI ,MI
	Oriental y Pacifico	CRF01_AE, B,	1.000.000	CDI, Het, VSV
América	Norte	B	900.000	VSV, CDI, Het
	Caribe	B	420.000	Het, VSV
	Central y Sur	B ,F	1.400.000	VSV, CDI, Het
Europa	Oriental y Asia Central	A, B, CRF03_AB	1.000.000	CDI
	Occidental	B	560.000	VSV, CDI
Australia y Nueva Zelandia		B	15.000	VSV

^a Aunque existen reportes de otros genotipos en esas regiones, los subtipos mencionados son los responsables por la mayoría de infecciones.

^b Números obtenidos de UNAIDS, reporte Diciembre 2001.

^c Forma de transmisión: VSV= varones que tiene relaciones con varones. CDI=consumo de drogas intravenosas. Het=heterosexual. MI= materno infantil. En todas las regiones en forma independiente al subtipo, las mujeres embarazadas están a riesgo de transmitir VIH al recién nacido.