

Cuestiones básicas

Los virus del SIDA

Los retrovirus

Los virus del SIDA pertenecen a una familia de virus animales, los retrovirus.

Desde hace casi 100 años se tiene el conocimiento de que algunos tipos de cánceres de especies animales (leucemias, sarcomas) están ocasionados por virus (agentes filtrables) lo que ha servido de estímulo durante muchas décadas en la búsqueda de estos virus por los virólogos, especialmente en la década de los 50-60 con los adelantos en microscopía electrónica y en la de los 70 con la demostración de la existencia de la transcriptasa inversa (Temin, Mizutani).

Como consecuencia de esta búsqueda se aisló en 1.980 el primer retrovirus humano descrito, el HTLV-I. Este virus ocasiona la leucemia de células T del adulto, enfermedad que Takastuki en Japón había observado que presentaba una distribución geográfica que hacía pensar en la posibilidad de que se debiese a un agente transmisible. De otro lado el descubrimiento de la interleucina 2 (IL-2) o factor de crecimiento de las células T permitió mantenerlas en cultivo durante largos períodos de tiempo. En 1.982 se aisló otro virus relacionado, el HTLV-II, a partir de un enfermo con leucemia de células peludas.

Poco después, en 1.983, el equipo de Montagnier aisló otro retrovirus que denominó LAV a partir de un ganglio linfático de un paciente que presentaba una linfadenopatía persistente generalizada y en 1.984 el equipo de Gallo descubrió otro retrovirus que denominaron linfotrópico humano de células T y al que correspondía el numeral III (HTLV-III). Posteriormente se comprobó que ambos virus eran en realidad el mismo e internacionalmente se acordó denominarlo virus de la inmunodeficiencia humana 1 o VIH-1 para diferenciarlo de otro retrovirus similar que aislado en 1.986 se denominó VIH-2.

En 1.987 se describió otro retrovirus asociado con un subgrupo de linfomas cutáneos de células T, el HTLV-V (previamente se había descrito el HTLV-IV que resultó ser una contaminación con un retrovirus de la inmunodeficiencia de los simios y que por lo tanto no se acepta como tal HTLV). En la presente década se han aislado otros retrovirus asociados, posiblemente, con enfermedades autoinmunes como el síndrome de Sjögren, la enfermedad de Graves, la esclerosis múltiple o el lupus eritematoso, pero cuya relación etiológica no se conoce perfectamente.

Los retrovirus están constituidos por un ácido ribonucleico (ARN) que debe copiarse en ácido desoxirribonucleico (ADN) bicatenario para poderse integrar en el núcleo de la célula huésped; por lo tanto su material genético es ARN en la partícula viral y ADN cuando se encuentran en la célula que infectan. El proceso de conversión de ARN en ADN es una característica principal de los retrovirus que se lleva a cabo mediante acciones enzimáticas secuenciales; la propiedad de replicarse a través de la transcripción inversa les da su nombre, pero esta propiedad la comparten otros virus animales, como los que producen las hepatitis B, y vegetales.

Además de ocasionar enfermedades en humanos y otros animales (aunque no todos los retrovirus ocasionan enfermedad), los retrovirus son virus importantes en biología molecular, biotecnología (producción de ADNc a partir de ARNm) y en experimentación en terapia genética y producción de animales transgénicos.

El VIH-1

Una característica importante del VIH es su extrema variabilidad genética por la que el VIH-1 forma parte de una población viral heterogénea que dificulta la comprensión de algunos de los mecanismos de interacción entre el virus y su huésped.

En unas condiciones idóneas, académicas, se considera que el VIH es una partícula esférica con un diámetro entre 80 y 110 nanómetros. Esta partícula presenta tres capas concéntricas: la capa interna contiene una especie de nucleóide con forma de cono truncado constituido por el ARN del virus y la nucleoproteína con las enzimas; la capa intermedia es la nucleocápside icosaédrica; la capa externa o envoltura es una bicapa lipídica derivada de la célula huésped; está constituida por la inserción de glucoproteínas del virus constituidas por trímeros de gp120 (gp, abreviatura de glucoproteína) formando 72 proyecciones y por una alta concentración de proteínas celulares entre las que destacan antígenos de histocompatibilidad de clases I y II (HLA I y II).

El genoma es un ARN de cadena única constituido por 2 hebras idénticas de 9,8 kb y de polaridad positiva que posee diferentes genes encargados de codificar distintas proteínas.

Existen genes encargados de codificar los componentes de la partícula vírica (**genes estructurales**) y de regular la expresión de los mismos (**genes reguladores**).

Los tres genes principales, que codifican las proteínas respectivas correspondientes a los antígenos internos, son comunes a todos los retrovirus y son los que se denominan gag (de grupo), pol (polimerasas) y env (envoltura). De los genes estructurales el gen gag codifica las proteínas del core, el gen pol codifica, fundamentalmente, las enzimas como la transcriptasa inversa y la proteasa y el gen env las proteínas de la envoltura vírica. Entre las funciones principales del gag se encuentra la de constituir la mayor parte de la estructura del virión participando en la síntesis de ADN y su integración, además de contribuir al ensamblaje de las partículas víricas y su salida

de la célula, el pol participa en la síntesis de ADN y su integración en el genoma celular mientras que el env participa en la asociación y entrada del virus en la célula por lo que se considera como el antígeno de entrada.

En contraposición con otros retrovirus, como los HTLV que sólo poseen tres, los VIH poseen al menos 7 genes reguladores que entre otras funciones tienen la de expresar el material genético viral integrado en la célula, lo que los une de un modo importante con la latencia del virus en ella. Entre las proteínas reguladoras las más importantes son las Tat y Rev que son esenciales para la replicación del virus; la Tat actúa como transactivadora de todas las proteínas y la Rev como procesadora del ARNm y su transporte selectivo en el citoplasma.

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

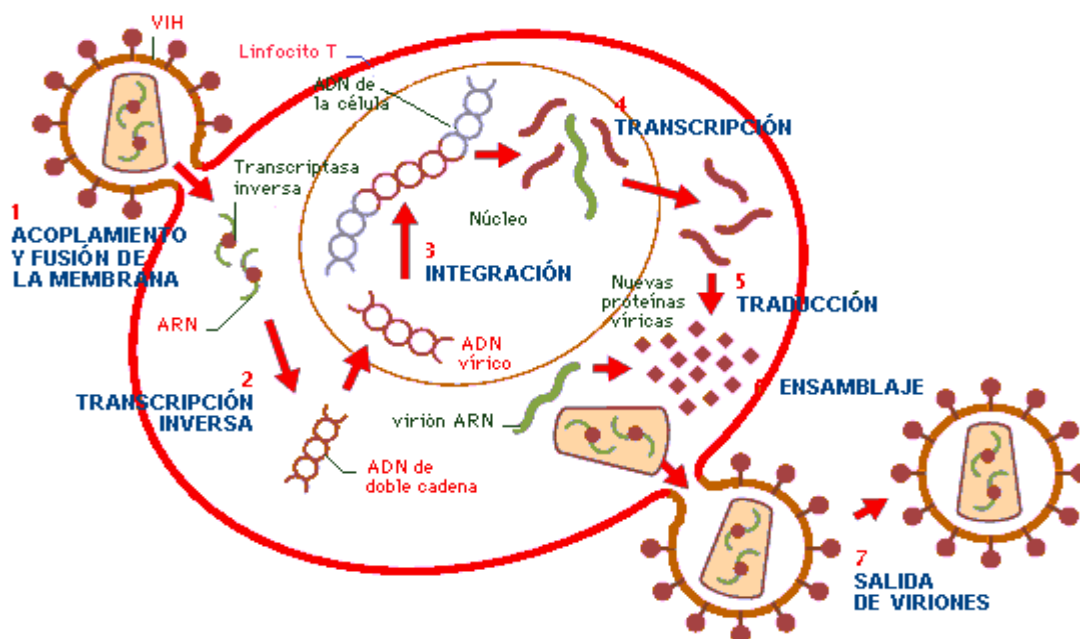
En la tabla adjunta al final se recogen de un modo resumido los principales genes del VIH y las funciones de las proteínas que codifican.

En la forma de provirus el genoma del VIH está flanqueado por las llamadas secuencias repetitivas largas (**LTR**) que le permiten la integración en el genoma de la célula huésped. Uno de los principales elementos que intervienen en la regulación de la inducción es el llamado **factor nuclear kappa beta** (NF κB) que son una familia de proteínas que regulan la transcripción de varios genes celulares implicados en los procesos de activación y reconocimiento inmunes. Este factor no existe en forma activa en los linfocitos CD4 en reposo y es inducido sólo en los procesos de activación inmune.

El ciclo vital del VIH-1

Por alguno de los mecanismos de transmisión conocidos el VIH-1 penetra en el organismo y llega a las células linfoides. Existen dos tipos de células humanas que son blanco principal de la infección VIH, los linfocitos T CD4 y los macrófagos de los tejidos. Como consecuencia de la llegada a las células diana se ponen en marcha un conjunto de procesos que tienen como finalidad ocasionar la entrada del virus en la célula y la utilización de sus

mecanismos bioquímicos para poderse replicar y dar lugar a nuevos virus. El conjunto de los fenómenos que acontecen se conoce como ciclo biológico o vital del VIH y los mecanismos íntimos que lo componen presentan una enorme complejidad de interacciones entre el virus y su huésped que no son totalmente conocidas en la actualidad y se presentan de un modo esquemático en el dibujo.



Para que el VIH penetre en la célula se debe producir la fusión de las membranas viral y celular. La entrada del VIH-1 en la célula se produce **por la interacción** del virus con al menos dos tipos de receptores. El receptor específico y común a todos los VIH-1 es una proteína que se encuentra en la superficie de las células diana y que se denomina molécula CD4. Se cree que esta molécula CD4 (no confundir con el linfocito CD4) es específica y eficiente y que la afinidad de la gp120 viral por la CD4 es mayor que la afinidad de ésta por su ligando natural, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad clase II. Las principales células que poseen este receptor son los linfocitos y los monocitos/macrófagos (CD4+), aunque 'in vitro' otros tipos celulares pueden ser infectados por el VIH y no todos

ellos poseen la molécula CD4 (CD4-). Los linfocitos CD8 no expresan en condiciones normales el receptor CD4 pero se sabe que tras la infección de determinados virus como el HHV-6 sí pueden expresarlo.

Más recientemente se han caracterizado otros correceptores del virus como son los receptores celulares del tipo CC o CXC de ciertas quimioquinas. El correceptor CCR5 es fundamentalmente utilizado por las cepas del VIH con tropismo por los monocitos (monocitotrópicas) mientras que el CXCR4 lo es por las que presentan linfocitotropismo; este receptor CXC también se denomina fusina y su ligando natural es el SDF-1. Se cree que las cepas inductoras de sincitios pueden utilizar ambos correceptores, aunque

fundamentalmente utilicen los CXCR4. Otros receptores como el CCR3 podrían ser utilizados por las cepas en las personas que no expresan los anteriores receptores. Se cree que existen algunas sustancias, que se han denominado intracinas, que son capaces de bloquear la expresión de los correceptores a nivel intracelular. También pueden actuar como receptores los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas y receptores del complemento utilizados por complejos antígeno-anticuerpo. La presencia en la superficie viral de material celular como los antígenos HLA o la beta2-microglobulina permiten que al ponerse en contacto virus y células la unión se realice a través de zonas de adhesión que permiten la unión gp120-CD4 en los linfocitos o de la gp120-fusina en células del epitelio rectal e incluso al receptor Gal-C de algunas células del sistema nervioso, células que probablemente presenten más receptores.

La existencia en el virión de algunas enzimas como la ciclofilina se piensa que permite la interacción con las proteínas de la cápside facilitando la denudación viral y en este sentido se han ensayado derivados de la cicloserina A sin acción inmunosupresora, que ejercen acción sobre la ciclofilina, como posibles antirretrovirales.

Una vez que tiene lugar la interacción entre la gp120 y los receptores se produce la fusión entre las membranas de la célula y del virus que tiene como responsable a la gp41 que se insertará en la membrana celular permitiendo la internalización de la nucleocápside del virus y la desencapsidación de su genoma.

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

cree que en los linfocitos este ADN no integrado podría producirse por la entrada de múltiples viriones en la célula; se sabe que la copia del material genético del VIH como ADN se almacena en el citoplasma de la célula (latencia preintegración) y se va integrando en los cromosomas de la célula a medida que pasa el tiempo y como consecuencia de estímulos sobre la célula (este fenómeno podría explicar en parte las infecciones silentes y ser base para la preparación de vacunas con ADN desnudo). A pesar de que el VIH puede infectar linfocitos quiescentes, en éstos la transcriptasa inversa y la integrasa no parecen ser eficientes y se suele producir un estadio preintegración con ADN proviral fundamentalmente extracromosómico o complejos ARN/ADN con transcripción inversa incompleta que guardarían la capacidad de integrarse con posterioridad.

El proceso de retrotranscripción y de integración no solo depende de los factores del VIH ya que en ellos juega un papel importante la propia activación celular.

Una vez integrado en el material genético de la célula el provirus puede permanecer latente o empezar a multiplicarse de una forma controlada o de una forma masiva, en cuyo caso ocasionará efectos citopáticos sobre la célula mientras que en la latencia, producida tras la integración del provirus, no se producen alteraciones patológicas. La activación celular por diferentes factores, como antígenos, mitógenos, citoquinas o virus heterólogos pueden activarla y producir una cascada de acontecimientos que llevan a la expresión del genoma viral; estos factores, entre los que el NF- κ B es el principal factor regulador de la transcripción del VIH a partir de su estado de latencia, llevan a una nueva transcripción (4) que supone la síntesis de ARN del virus a partir del ADN proviral integrado en la célula. Este ARN se sintetiza como un único transcrito que debe volver al citoplasma de la célula para procesarse en transcritos de diferente tamaño y en los que son fundamentales las proteínas Tat y Rev.

Se piensa que el resto de acontecimientos requieren señales específicas sin las que sólo se forman partículas virales maduras sin ARN viral. El ensamblaje (6) del core ocurre en la membrana celular y parece comenzar con la asociación de la proteína p17 de la matriz con el dominio citoplasmático de la proteína gp41. También parece que el clivaje de las proteínas del core se produce a partir de poliproteínas precursoras durante la formación de la partícula y después de ella. La síntesis de las proteínas de la envoltura viral se producen en el retículo endoplásmico de la célula huésped a partir de la

gp160; ésta en el aparato de Golgi es clivada por una proteasa para producir gp120 y gp41 antes de transportarlas a la superficie de la célula.

El virión maduro está compuesto por una membrana, que incluye las proteínas virales gp120 y gp41, además de varias proteínas celulares, un core que contiene ARN viral, transcriptasa inversa e integrasa. Otras proteínas no son empaquetadas en los viriones y sólo actúan en los pasos que preceden a la liberación de los virus.

Cinética de replicación del VIH-1

Se piensa que la vida libre de los viriones es muy corta, aproximadamente de 0,3-0.5 días (8-12 horas), y que en 2,6 días se realiza un ciclo viral completo con salida desde la célula infectada, infección productiva, vida libre, infección de otro linfocito, replicación intracelular y salida de nuevos viriones. De este modo se producirían unos 140 ciclos de replicación al año y en situaciones de equilibrio se estima que se producen y se destruyen del orden de 10^{12} viriones renovándose cada día alrededor del 30% de las partículas circulantes. De mismo modo se estima que del orden de 10^9 linfocitos CD4+ se producen y se destruyen diariamente probablemente a partir de la estimulación y proliferación de clones periféricos, lo que puede suponer un índice de recambio de 10 a 100 veces superior al fisiológico; en estas condiciones de equilibrio se piensa que cada 15 días se renueva la totalidad de los CD4+ circulantes siendo la vida media estimada de un linfocito infectado por el VIH de 1,2 a 2,2 días. También se ha calculado que cada célula infectada produce del orden de 10^4 a 10^5 partículas virales muchas de las cuales son defectivas, estimándose que un 1% del total de los linfocitos del organismo se infectan de novo cada día. Con esta dinámica poblacional y estimando la tasa de mutaciones del orden de 10^{-4} a 10^{-5} sustituciones por nucleótido copiado, se regeneran rápidamente distribuciones mutantes que podrían alcanzar los 10^{12} partículas virales circulantes en un individuo infectado.

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

En el modelo de cuasiespecies se acepta que la secuencia de nucleótidos del virus es indeterminada a nivel individual y sólo se definiría de un modo estadístico. En algunos casos un genoma con una secuencia definida puede ser el mayoritario (secuencia maestra) pero no siempre ocurre así ni tiene por qué coincidir con la secuencia consenso de la población viral.

Las familias de virus desarrollan una serie de complejos **mecanismos, llamados de escape**, para no ser eliminados por la respuesta defensiva del organismo ante su presencia. En el caso de los retrovirus estos mecanismos corresponden básicamente al desarrollo de variabilidad genética debida a la alta tasa de error de la transcriptasa inversa en la retrotranscripción y a la posibilidad de permanecer en estado latente en determinados reservorios. La transcriptasa inversa del VIH tiene una tasa de error similar a la de otros virus ARN y se estima del orden de 10^{-3} a 10^{-5} sustituciones por nucleótido copiado (de cada 1.000 a 100.000 nucleótidos copiados uno es erróneo); consecuencia de esta variabilidad se producen gran cantidad de virus defectivos pero también se da lugar a una alta diversidad de las proteínas virales que teóricamente puede permitirles escapar a

los controles inmunitarios específicos y a la presión de los antirretrovirales.

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

En sangre periférica solo están infectados entre el 1 y el 10% de los linfocitos T CD4 circulantes, sin embargo en los órganos linfoides, especialmente los ganglios linfáticos, se piensa que pueden estar infectados más del 40% de los linfocitos CD4 presentes y que sólo una pequeña proporción de ellos, alrededor del 1%, replican activamente el genoma proviral que contienen produciendo

del orden de 10^{10} viriones productivos al día y representarían a la población celular destruida (alrededor de 10^8); los virus producidos infectarían a un número parecido de células (alrededor del 1% del total) y esta población infectada de novo sería mayoritariamente de linfocitos activados para regenerar a los destruidos y en ellos el VIH experimentaría probablemente una replicación rápida sin fase de latencia.

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

Metáfora del tren

La variabilidad en la rapidez de la progresión de la infección VIH se ha explicado aludiendo a la metáfora de un tren (según Ho, citando al retrovirologo Coffin).

En ella la infección VIH es el propio tren, la cantidad de virus que existe (carga viral) es la velocidad que lleva el tren y los raíles que componen el trayecto son los linfocitos CD4 que tiene el paciente. La estación final es el desarrollo del SIDA hacia la que el tren avanza, pero va a necesitar un tiempo para recorrer el trayecto.

A similitud de linfocitos CD4, el tiempo va a depender de la cantidad de virus (velocidad) y por lo tanto cuanto más baja sea más tiempo tardará en recorrerlo; si la carga viral es indetectable, la velocidad del tren será prácticamente nula, pero por lo que hasta hoy se conoce el tren no se para del todo, parece como si existiese una ligerísima pendiente hacia abajo, por lo que no se llega a frenar.

Cuando la carga viral sea similar, el tiempo depende de la distancia que se tenga que

recorrer. Si el sistema inmunitario está conservado, el trayecto es muy largo, le costará más tiempo llegar al destino; por el contrario, conforme la cifra de CD4 cae, el recorrido es menor y a igual velocidad el tiempo empleado en recorrerlo será menor.

La cifra de linfocitos CD4+ se acorta en un promedio de 50-80 células/mm³ al año aunque diversos factores, por ejemplo la presencia de cepas inductoras de sincitio, pueden ocasionar pérdidas mayores con carga viral relativamente estable.

El punto de partida de este tren lo constituye la primoinfección; si ésta es sintomática por lo general se piensa que los valores de viremia serán moderadamente elevados y se mantendrán en los períodos posteriores en ausencia de tratamiento.

Si aceptamos esta metáfora del tren podemos comprender las guías actuales del tratamiento antirretroviral: tratar lo más pronto posible y lo más duro posible. Con ello reducimos la replicación viral a niveles bajos a la vez que

preservamos el sistema inmunitario (en la metáfora, disminuimos la velocidad del tren y aumentamos el trayecto a recorrer; queda por saber si llegamos a una infección crónica, a la curación o qué puede pasar en estaciones intermedias).

Se debe insistir en que a pesar de los actuales tratamientos con antirretrovirales o en las esperanzas puestas en futuras vacunas, en la actualidad la mejor forma de combatir el SIDA es no subirse al tren (**prevención**).

Tabla: Principales genes del VIH y funciones de las proteínas que codifican

Gen	Proteína	Función
env	gp160 gp120 gp41	Precursor Proteína de la envoltura Interacción con receptores y correceptores. Fusión de membranas
gag	p55 p24 p17 p9 p6	Precursor Proteína de la nucleocápside Proteína de la matriz Ribonucleoproteínas asociadas al ARN viral.
pol	Transcriptasa inversa Integrasa Proteasa	Retrotranscripción del genoma viral Actividad RNasa H Integración del genoma viral retrotranscrito Procesamiento de las proteínas virales que forman la estructura del virión.
tat	Tat	Transactivación
rev	Rev	Regulación del transporte y procesamiento de ARN
nef	Nef	Retrotranscripción. Infectividad
vif	Vif	Infectividad viral
vpr	Vpr	Transactivador
vpu	Vpu	Liberación de viriones
tev	Tev	Activador tat y rev

- La infección por el VIH requiere cuidados precisos que sólo un equipo multidisciplinario puede prestar. La información que se da sobre medicamentos tiene sólo carácter informativo, **de ningún modo** debe servir como guía para 'automedicarse'; tampoco se debe tomar la sintomatología como guía para 'autodiagnosticarse'.
- En el momento de su edición, las Hojas Informativas VIH y SIDA reproducen el contenido del sitio web "VIH y SIDA" (<http://www.ctv.es/USERS/fpardo/home.html>). La información a la que hacen referencia cambia constantemente por lo que algunos de los datos recogidos pueden no estar actualizados. Su contenido y mantenimiento son responsabilidad exclusiva de su autor que, en la medida de su conocimiento y posibilidades, incluye información científicamente contrastada que considera puede ser de utilidad general.
- Las Hojas Informativas y por lo tanto su contenido pueden ser reproducidos con fines no comerciales ni lucrativos sin que sea necesaria ninguna autorización. Si lo desea puede ponerse en contacto con el autor mediante correo electrónico: fpardo@ctv.es