

AVANCES EN LA INVESTIGACION DEL VIH Y EL SIDA

José A. Bonilla Vargas

Palabras clave: Virus de la Inmunodeficiencia Humana, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida VIH, SIDA.

INTRODUCCION

En la historia de la ciencia moderna, nunca antes se había dedicado tanto esfuerzo en la investigación de un patógeno (aunque todavía existen dudas en algunos investigadores como Duesberg) (16), como en el caso del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la enfermedad producida por este virus, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Es muy probable que sea el patógeno mejor conocido; se han descrito exhaustivamente aspectos de su genética molecular, bioquímica de proteínas, ciclo de vida, interacción con las células hospederas, hasta los aspectos más detallados de sus formas de transmisión y epidemiología. Sin embargo, los mecanismos inmunopatológicos de la enfermedad siguen siendo relativamente desconocidos, y preguntas como ¿qué factores gobiernan la latencia del virus?, ¿cómo se induce la fase aguda de la enfermedad? o ¿cómo se inhibe la respuesta inmune?, siguen aún sin contestarse.

La descripción del síndrome a principios de los años 80 (5) y el descubrimiento del virus en 1983 (4,34) son hechos

relativamente recientes que han llevado a la humanidad a experimentar la pandemia más grande y de consecuencias más importantes de la era moderna, ya que el principal blanco del virus es la población joven, laboralmente activa.

Pese a los grandes esfuerzos para tratar y frenar el avance de la pandemia, los resultados han sido sólo parcialmente positivos, sobre todo en el campo de la prevención en los países desarrollados. Se han desarrollado métodos de diagnóstico muy sensibles para el tamizaje de sangre y otros productos para transfusión, y se han dictado pautas generales de conducta sexual y pautas específicas que atañen principalmente a los adictos a las drogas intravenosas.

En lo que se refiere al tratamiento preventivo y curativo, aunque ha habido avances importantes, todavía no se cuenta con una vacuna o con alguna droga efectiva, sino que lo que existen son tratamientos paliativos que prolongan la vida de los pacientes en un año o más. Esto se hace más evidente si se revisan los resultados expuestos en la última conferencia mundial sobre SIDA que se llevó a cabo en Amsterdam, Holanda, en julio de 1992 (20). No sólo se observó un panorama relativamente poco alentador en cuanto a vacunas y tratamiento, sino que, como aspecto novedoso, se reportó por parte de diferentes investigadores, la aparición de personas con presentación clínica y sintomatología de SIDA a las cuales no se les ha podido demostrar infección viral. Esto podría tener diferentes

Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica, San Pedro de Montes de Oca 2060, Costa Rica.

explicaciones, como sería la aparición de un nuevo virus o una variante que no sea reconocida por los métodos de diagnóstico existentes, o sencillamente que se trate de un problema no infeccioso. De ser este un problema causado por un virus nuevo o similar a los ya conocidos, plantearía una revisión total del problema, sobre todo en lo que se refiere a epidemiología y diagnóstico.

La pandemia. Los epidemiólogos presentan, en variados tipos de publicaciones, muchos datos que no siempre concuerdan, pero dejan ver claramente que la situación es alarmante. El número de personas seropositivas tiende a subestimarse por los casos no reportados o no diagnosticados del todo, y por los casos de infección por el VIH 2, para el cual no todos los países cuentan con métodos adecuados de diagnóstico. (Pero sí se sabe que este virus está ampliamente distribuido en Africa Occidental) (9,10). Aun así, algunos calculaban unos 10 millones de personas infectadas para fines de los años 80(29) de los cuales 1 millón corresponde a los Estados Unidos; se estima que para el año 2000 se alcanzará la cifra de 100 millones de personas infectadas en el mundo (2,20).

La transmisión del virus por contacto heterosexual ha cambiado drásticamente el panorama de la pandemia. Africa es el continente más afectado: en algunos países del centro, más del 10% de la población general está infectada, 30% de las mujeres embarazadas, hasta un 80% de las prostitutas y ha llegado a ser la principal causa de invalidez y muerte entre la población laboralmente activa (2,20). Sin embargo, en otras latitudes, el número de casos aumenta en forma desproporcionada, como es el

caso de Tailandia y Brazil (20). En Honduras, se están reportando más de 100 casos mensuales con una alta proporción de mujeres (Herrera G. comunicación personal).

Se debe enfatizar que la mayoría de estos datos estadísticos no incluyen el VIH-2 y aunque parece que este otro virus no es tan agresivo como el VIH-1 (33), es un problema latente, al cual por diversas razones, no se le ha prestado la debida atención, pero que en un futuro cercano puede complicar aún más la pandemia del SIDA.

El SIDA en las mujeres. Luego de una década de la descripción de los primeros casos de infección por VIH-1 en hombres homosexuales y poco tiempo después en grupos de adictos a las drogas intravenosas, se ha llegado a reconocer que la transmisión del virus ocurre también a través de conductas heterosexuales, y que la proporción de mujeres seropositivas aumenta en forma alarmante, sobre todo en países en vías de desarrollo. En algunas grandes ciudades de los Estados Unidos, como Nueva York y San Francisco (20), hasta un 50% de los casos nuevos corresponde a mujeres. En Costa Rica, la mayoría de los casos en mujeres se debe también a transmisión heterosexual (35). Esto representa un nuevo problema médico y social que debe ser reconocido como tal y también por otros aspectos de importancia epidemiológica, como son la transmisión madre-hijo y la prostitución, que pasó a jugar un papel preponderante como forma de propagación. Otro aspecto interesante es que algunos estudios sugieren que la expectativa de vida de las mujeres, luego del diagnóstico de infección por VIH-1, es significativamente menor (47). Las investigaciones recientes demuestran

que los esteroides podrían jugar un papel importante en la evolución de la enfermedad. Se ha observado que los glucocorticoides y el embarazo estimulan la expresión del ARN viral, específicamente los LTR's (Long Terminal Repeats) y la síntesis de proteínas virales (18,31); con base en esto, sería fácil postular que las alteraciones fisiológicas (hormonales) que ocurren durante el ciclo menstrual y el embarazo pueden acelerar el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, no existen estudios confiables en este sentido.

Casos pediátricos. Como consecuencia del comportamiento de la pandemia, el número de casos pediátricos aumenta vertiginosamente, lo que resulta en un nuevo reto para la sociedad, pues muchos son hijos de madres solteras, de niveles socioeconómicos bajos, son niños rechazados y con una altísima probabilidad de perder a su madre en los primeros años de vida. Desde el punto de vista médico, se ha observado que los casos pediátricos tienen períodos de latencia y supervivencia, menores que los adultos (2).

Algunos experimentos sugieren que el virus tiene tropismo por el timo, particularmente por linfocitos inmaduros (14), lo que explicaría el daño severo del timo que se observa en las autopsias de niños; así, la maduración de los linfocitos T se vería inhibida y el número de linfocitos circulantes disminuye precipitadamente. Como resultado de todo este proceso, se observa un evento de inmunosupresión rápido y sin posibilidades de recuperación.

Debido a que los neonatos tienen un sistema inmune inmaduro, los mecanismos de defensa inespecíficos son muy activos; dentro de éstos los

macrófagos juegan un papel muy importante como una de las primeras líneas de defensa. Sin embargo, se ha demostrado claramente que el VIH tiene tropismo por los macrófagos, en donde se reproducen y se mantienen como reservorio (19), lo que podría también explicar la agresividad del virus en niños.

La terapia anti-VIH. Esta es, sin duda, una de las áreas que se desarrolla más intensamente y la que ha dado como resultado dos medicamentos con algún resultado positivo, que ya fueron autorizados para su administración en los seres humanos en los Estados Unidos: 3'-azido-2',3'-dideoxitimidina (AZT o Zidovudine) y 2,3-dideoxiino-sina (ddl) (21). Ambas son dideoxinucleótidos que actúan por competencia, intercalándose en la síntesis de los ácidos nucleicos y produciendo errores que inhiben la multiplicación viral; sin embargo, ambas inducen severos efectos colaterales.

La identificación del CD4 en los linfocitos T como el receptor para el virus, específicamente para la glicoproteína de superficie gp 120 (11,27,37), planteó la posibilidad de inhibir la infección viral por bloqueo de la interacción CD4-gp120. En 1988, varios grupos de investigadores (13,17,23,41) desarrollaron metodologías para la producción de CD4 soluble (sCD4). La molécula es más pequeña que el CD4 nativo, ya que se produce sin las regiones hidrofóbicas, pero mantiene la región que interacciona con la gp 120. Rápidamente se comprobó in vitro que el sCD4 tiene la capacidad de bloquear la infección de VIH-1, VIH-2 y SIV en células en cultivo (8,44) y se ha comprobado que es eficaz en las pruebas clínicas preliminares, sobre todo si se combina

con AZT (46). Sin embargo, el sCD4 *in vitro* no inhibe la infección de células de origen nervioso y muscular (6,8). Esto, más el hecho de que no se conocen bien los efectos que esta proteína pudiera tener al ser administrada en un ser humano, han disminuido las expectativas de su uso como terapia efectiva anti-VIH.

Otra forma de emplear la sCD4 es conjugado con toxinas como la exotoxina de *Pseudomonas*; esto con el fin de que actúe directamente sobre las células infectadas con el VIH que presenten la gp 120 en su membrana. Hasta ahora, se han obtenido resultados positivos sólo *in vitro*, que mejoran si se usa en combinación con AZT (46). Otros grupos de investigadores están dedicando esfuerzos para desarrollar formas de atacar directamente el ARN viral. Así, se han sintetizado los llamados "Antisense RNA" u oligómeros de ARN antisentido, que tienen la capacidad de unirse por complementariedad a determinados segmentos del ARN viral y así bloquear su multiplicación. Los ensayos preliminares *in vitro* han mostrado actividad inhibitoria, pero se necesita investigar más en detalle esta posibilidad. Además, se estudia la actividad de las llamadas "Ribozimas" (ARN's con actividad catalítica) que pueden actuar directamente sobre diferentes segmentos del ARN viral. Aunque estos métodos se basan en moléculas pequeñas con una vida media baja, las ribozimas tienen la ventaja de actuar como enzimas, es decir, una sola molécula tiene la capacidad de actuar sobre muchas moléculas de ARN (46).

El VIH y los cofactores. Se ha postulado la posibilidad de que el virus necesite un "ayudante" o cofactor para que pueda darse la infección o se manifieste la

sintomatología clínica. Varios sospechosos han sido investigados, y a finales de los años 80, se llegó a pensar que un virus de la familia Herpes podía ser el responsable (12, 20). Esta teoría fue luego descartada y la mayoría de las investigaciones en este sentido han sido infructuosas. El Dr. Montagnier, descubridor del virus y conocido en el mundo científico por su perseverancia, sostiene que el cofactor puede ser un micoplasma (3). Estos son organismos primitivos semejantes a bacterias, que forman parte de la flora normal y pocas veces se asocian a enfermedad (12). Otros estudios del Dr. Lo *et al.* (26) también apuntan en el mismo sentido. Existe evidencia de que el VIH existía en África mucho antes de que apareciera el SIDA, y Montagnier postula que no fue hasta que se combinó con una determinada especie de micoplasma existente sólo en América que comenzó la epidemia. Algunos experimentos indican que existen especies de micoplasmas con capacidad inmunosupresora (observación personal) o actividad citotóxica anti-linfocitos CD4+ (26), pero aún no se cuenta con pruebas concretas que confirmen la hipótesis de Montagnier.

Inmunopatogénesis. Una de las teorías más interesantes en cuanto al mecanismo inmunopatológico del SIDA fue publicada por Hoffmann *et al.* en 1991(22). Ellos postulan que, por una similitud casual entre la gp 120 del virus y las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad de tipo II (CMH II), se llegan a producir autoanticuerpos que atacan el sistema inmune directamente. Se ha postulado también que, inicialmente, las personas infectadas responden relativamente bien contra el virus, pero no lo eliminan del todo por su capacidad de

permanecer latente integrado en el genoma de diferentes células. La variabilidad del virus expone constantemente al organismo a diferentes antígenos y se montan respuestas inmunes contra todos ellos. Sin embargo, el virus "gana la partida" y sobrepasa la capacidad de respuesta del sistema inmune para producir la etapa aguda de la enfermedad, o bien, hasta que se produzcan autoanticuerpos que inhiban la respuesta inmune.

La evidencia reciente apoya lo anterior (24); demuestra que ratones inmunizados con linfocitos de otra cepa de ratón y sin el VIH, montan una respuesta de anticuerpos que reconocen la gp 120 y la p24 del virus, además, cepas de ratones con alta susceptibilidad a presentar problemas autoinmunes, producen también anticuerpos contra el HIV. En otros experimentos hechos con macacos, se observó que los animales control inoculados con linfocitos libres del virus montan una respuesta que protege de la infección posterior (40), en este caso, contra el virus de la inmunodeficiencia de simios (VIS). (En la mayoría de los experimentos similares llevados a cabo anteriormente, no se montaron los controles necesarios debido a la escasez de simios, por lo que este fenómeno no había sido observado). Estos resultados sugieren similitud entre las proteínas virales y las proteínas de los linfocitos que pueden llevar a un estado de autoinmunidad, y no excluye la posibilidad de que el efecto supresor del virus o específicamente de la gp 120 (1, 7, 15, 28, 30, 32, 39, 43) actúe en forma simultánea, acentuando aún más el cuadro de incompetencia inmunológica. Otra observación interesante, recientemente publicada (38), indica que la

infección de las células CD4+ por el VIH es preferencial sobre los linfocitos de memoria (Fenotipo CD45RO+). Este hecho explicaría la inhabilidad de las personas infectadas a responder a antígenos "conocidos", aunque a veces sí respondan a la estimulación inespecífica de mitógenos. A la vez, parece que el virus aprovecha algunos mecanismos de activación celulares para su propia multiplicación. Se ha demostrado que una de las principales citoquinas liberada por los linfocitos activados es el factor de necrosis tumoral (TNF), y éste a su vez estimula otros factores nucleares como el NF- κ B. Este último transactiva las Repeticiones Largas Terminales (LTR) del VIH y estimula su transcripción (42). En cuanto a la respuesta inmune de las personas infectadas, no se ha descrito nada de trascendencia que pueda incidir en el diseño de tratamientos o vacunas. Recientemente, se han publicado revisiones sobre la inmunidad humoral (45), la inmunidad celular (36) y la vacunación (25) contra el VIH. Esta no es una revisión exhaustiva, sólo se pretende describir algunos de los hallazgos más importantes de los últimos años que ayudan a comprender mejor el complejo panorama que significa el SIDA, y así poder diseñar mejores estrategias para su prevención y tratamiento, ya que el diseño de una vacuna efectiva contra el VIH pareciera estar todavía en etapas muy tempranas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración de mis compañeros en el Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular y el apoyo de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. Amadori A., Faulkner -Valle, C.P., De Rossi A.J., Zanovello P., Collavo D., ChiecoBianchi, L. HIV-mediated immunosuppression: *in vitro* inhibition of T lymphocyte proliferation response by UV-inactivated virus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1988; 46:37- 54.
2. Anderson RM., May PM. Understanding the AIDS pandemic. *Scient. Am.* 1992; 266:20-26.
3. Balter M. Montagnier pursues the mycoplasma-AIDS link. *Science* 1991; 251:271.
4. Barré-Sinoussi F., Cherman JC., Rey F., *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220: 868-871
5. Centers for Disease Control. Task force on Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. *N. Engl. J. Med.* 1982; 306:1248-1252.
6. Cheng-Mayer C., Rutka JT., Rosenblum ML., McHugh T., Stites DP., Levy JA. Human immunodeficiency virus can productively infect cultured human glial cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1987; 84:3526-3530.
7. Chimule N., Kalyanaraman V., Oyaizu M., Pahwa S. Inhibitory influences of envelope glycoproteins of HIV -1 on normal immune responses. *J. Adq. Immun. Def. Syn.*1988; 1:425-430.
8. Clapham PR., Weber JN., Whitby D., *et al.* Soluble CD4 blocks the infectivity of diverse strains of HIV and SIV for T cells and monocytes but not for brain and muscle cells. *Nature* 1989; 337:368-370.
9. Clavel F., Guétard D., Brun-Vézinet F., *et al.* Isolation of a new human retrovirus from west african patients with AIDS. *Science* 1986; 233:343-346.
10. Clavel F. HIV -2, the West African AIDS Virus. *AIDS* 1987; 1:135-140.
11. Dalglish AG., Beverley PCL., Clapham PR., Crawford DH., Greaves MF., Weiss RA. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984; 312:763-766.
12. Davis BD., Dulbecco R., Eisen HN., Ginsberg HS. *Microbiology* 4 ed., Philadelphia, USA. Lippincott Co., 1990; 707-716 y 945.
13. Deen KC., McDougal JS., Inacker R. *et al.* A soluble form of CD4 (T4) protein inhibits AIDS virus infection. *Nature* 1988; 331:82-84.
14. De Rossi A., Calabro ML, Panozzo M., *et al.* *In vitro* studies of HIV-1 infection in thymic lymphocytes: A putative role of the thymus in AIDS pathogenesis. *AIDS Res. Hum. Retrov.* 1990; 6:287-298.
15. Diamond DC., Sleckman BP., Gregory T., Lasky LA., Greenstein JL., Burakoff S. Inhibition of CD4 + cell function by the HIV envelope glycoprotein, gp 120. *J. Immunol.* 1988; 141:3715-3717.
16. Duesberg PH. Human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome: Correlation but not causation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1989; 86:755-764.
17. Fisher RA. Bertonis JM., Meier *et al.* HIV infection is blocked *in vitro* by recombinant soluble CD4. *Nature.* 1988; 331:76-78.
18. Furth PA., Westphal H., Hennighausen L. Expression from the HIV-LTR is stimulated by glucocorticoids and pregnancy. *AIDS Res. Hum. Retrov.* 1990; 6:553-559.
19. Gartner S., Popovic M. Macrophage tropism of HIV -1. *AIDS Res. Hum. Retrov.*1990; 6: 1017-1019.
20. Gorman, C. Invincible AIDS. *Time Magazine.* 1992; Ag.3:30-37.
21. Haseltine WA. Development of antiviral drugs for the treatment of AIDS: Strategies and Prospects. *J. Adq. Imm. Def. Syn.* 1989; 2:311-334.
22. Hoffmann GW., Kion TA., Grant MD. An idiotypic network modal of AIDS imunopathogenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1991; 88:3060-3064.
23. Hussey RE., Richarson NE., Kowalski M. *et al.* A soluble CD4 protein selectively inhibits HIV-1 replication and syncytium formation. *Nature* 1988; 331:78-80.
24. Kion TA., Hoffmann GW. Anti-HIV and anti-anti-MHC antibodies in alloimmune and autoimmune mice. *Science.* 1991; 253:1138-1140.

25. Leclerc C. Vaccination against HIV and SIV. *Curr. Opin. Immunol.* 1990; 2:428-432
26. Lo SC., Tsai S., Benish JR., *et al.* Enhancement of HIV cytotoxic effects in CD4+ lymphocytes by the AIDS associated mycoplasma. *Science* 1991; 251:1074-1076.
27. Maddon PJ., Dalgleish AG., McDougal JS., Clapham PR., Weiss RA., Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and in the brain. *Cell.* 1986, 47: 333-348.
28. Mann DL., Lasane F., Popovic M., Arthur LO., Robey WG., Blattner WA., Newman JF. HTLV III large envelope protein (gp 120) suppresses PHA -induced lymphocyte blastogenesis. *J. Immunol.* 1987; 138:2640-2644.
29. Mann JM. The global picture of AIDS. *J. Adq. Imm. Def. Syn.* 1988; 1:209-216.
30. Margolick JB., Volkman DJ., Folks TM., Fauci AS. Amplification of HTLV-III/LAV infection by antigen-induced activation of Tcells and direct suppression by virus of lymphocyte blastogenic responses. *J. Immunol.* 1987; 138:1719-1723.
31. Nunez EA., Christeff N., Benassayag C. Martin ME., Vallette G. Corticosteroid modifications in HIV infection: A role of nonesterified fatty acids. *AIDS. Res. Hum. Retrov.* 1990; 6:1147-1148.
32. Oyaizu N., Chirmule N., Kalyanaraman VS., Hall WW., Good RA., Pahwa S. Human Immunodeficiency Virus type 1 envelope glycoprotein gp 120 produces immune defects in CD4+ T lymphocytes by inhibiting Interleukin-2 mRNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1990; 87:2379-2383.
33. Pepin J., Morgan G., Dunn D., *et al.* HIV-2 induced immunosuppression among asymptomatic West African prostitutes: evidence that HIV-2 is pathogenic, but less so than HIV-1. *AIDS* 1991; 5:1165-1172.
34. Poiesz BJ., Ruscetti FW., Gazdar AF., Bunn PA., Minna JD., Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T cell lymphoma. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980; 77:7415-7419.
35. Quirós M. La muerte ronda en casa. *La Nación* 1992; 15 julio, Sec.B:1-2.
36. Rivière Y. The cellular immune response to the human immunodeficiency virus. *Curr. Opin. Immunol.* 1990; 2:424-427.
37. Sattentau QJ., Dalgleish AG., Weiss RA., Beverley PC. Epitopes of the CD4 antigen and HIV infection. *Science.* 1986; 234:1120-1123.
38. Schnittmann SM., Lane HC., Greenhouse J. *et al.* Preferential infection of CD4+ memory T cells by HIV-1: Evidence for a role in the selective Tcell functional defects observed in infected individuals. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1990; 87:6058-6062.
39. Shalaby MR., Krowka JF., Gregory TJ. *Et al.* The effects of Human Immunodeficiency Virus recombinant glycoprotein on immune cell functions *in vitro.* *Cell. Immunol.* 1987; 110:140-148.
40. Stott EJ. Anti-cell antibodies in macaques. *Nature* 1991; 353:393.
41. Traunacker A., Luke W., Karjaleinen K. Soluble CD4 molecules neutralize human immunodeficiency virus type 1. *Nature.* 1988; 331:84-86.
42. Virelizier JL. Cellular activation and human immunodeficiency virus infection. *Curr. Opin. Immunol.* 1990; 2:409-413.
43. Wainberg MA., Blain N., Spira B. Inhibition of human lymphocyte mitogenesis by human and other retroviruses. Differential effect of Interleukin-2 in restoration of responsiveness. *AIDS* 1987; 1:83-87.
44. Watanabe M., Chen ZW., Tsubota H. *et. Al.* Soluble human CD4 elicits an antibody response in rhesus monkeys that inhibits SIV replication. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1991; 88:120-124.
45. Weber J. Humoral immunity to the human immunodeficiency virus. *Curr. Opin. Immunol.* 1990; 2:420-423.
46. Williams P. Novel approaches for drugs to combat HIV. *Am. Soc. Microb. News* 1990; 56:72-74.
47. Williams P. A new focus on AIDS in Women. *Am. Soc. Microb. News* 1991; 57:130-134.